

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. Ана Тодоровић

Крагујевац, 2018.

Садржај

I УВОД	4
1. ЈОНИЗУЈУЋЕ ЗРАЧЕЊЕ – ПРИРОДА И ДЕЈСТВО	4
1.1. ОСЕТЉИВОСТ ОРГАНИЗМА НА ЗРАЧЕЊЕ У ЗАВИСНОСТИ ОД ВРСТЕ ИЗВОРА И ТИПА ЕМИСИЈЕ	5
1.2. АНТИОКСИДАТИВНИ СИСТЕМ (АОС)	6
1.3. РЕДУКОВАНИ ГЛУТАТИОН (GSH)	7
1.4. ЕНЗИМСКИ АНТИОКСИДАНТИ	8
1.4.1. Супероксид дисмутаза (SOD)	8
1.4.2. Каталаза (CAT)	10
1.4.3. Глутатион пероксидаза (GSH-Px)	12
1.4.4. Глутатион редуктаза (GR)	13
1.5. ОКСИДАЦИОНИ СТРЕС И РЕАКТИВНЕ ВРСТЕ КИСЕОНИКА (ROS)	14
1.5.1 Супероксид анјон радикал ($O_2^{\cdot-}$)	16
1.5.2 Хидроксил радикал ($OH^{\cdot}$)	17
1.5.3 Водоник пероксид (H_2O_2)	18
1.5.4 Синглет кисеоник ($^{\cdot}O_2$)	19
1.5.5 Азот оксид ($^{\cdot}NO$)	19
1.6 ШТИТАСТА ЖЛЕЗДА (Glandula thyreoidea, тиреоидна жлезда)	20
1.6.1 Малигни тумори штитасте жлезде	22
1.6.2 Терапија радиоактивним јодом (^{131}I)	23
2. Циљ	29
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	30
3.1. ПАЦИЈЕНТИ	30
3.1.1. Радиојодна терапија	30
3.2. ПРИПРЕМА УЗОРАКА ИЗ КРВИ	31
3.2.1. Крвна плазма	32
3.2.2. Лизат крвних ћелија	32
3.2.3. Екстракција хемоглобина (Hgb) из крвних ћелија	32
3.3. ОДРЕЂИВАЊЕ ХЕМАТОЛОШКИХ ПАРАМЕТАРА	32

3.4. ОДРЕЂИВАЊЕ АНТИОКСИДАТИВНИХ ПАРАМЕТАРА	33
3.4.1. Одређивање ензимске активности супероксид дисмутазе (SOD)	33
3.4.2. Одређивање ензимске активности каталазе (CAT)	34
3.4.3. Одређивање ензимске активности редукованог глутатиона (GSH)	35
3.5. ОДРЕЂИВАЊЕ ОКСИДАТИВНИХ ПАРАМЕТАРА (ПАРАМЕТАРА ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА)	36
3.5.1. Одређивање индекса липидне пероксидације (TBARS)	36
3.5.2. Одређивање концентрације супероксид анјон радикала ($O_2^{\bullet-}$)	37
3.5.3. Одређивање концентрације водоник пероксида (H_2O_2)	38
3.5.4. Одређивање концентрације азот оксида ($^{\bullet}NO$)	39
3.6. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА	40
4. РЕЗУЛТАТИ	41
4.1. ХЕМАТОЛОШКИ ПАРАМЕТРИ	42
4.1.1. ЛЕУКОЦИТИ (Le)	42
4.1.2. Еритроцити (Er)	45
4.1.3. Хемоглобин (Hgb)	49
4.1.4. Хематокрит (Hct)	53
4.1.5. Тромбоцити (Tr)	56
4.2. ПАРАМЕТРИ АНТИОКСИДАТИВНОГ СТАТУСА	60
4.2.1. Индекс липидне пероксидације (TBARS)	60
5. ДИСКУСИЈА	91
6. ЗАКЉУЧЦИ	104
7. Литература	107

I УВОД

1. ЈОНИЗУЈУЋЕ ЗРАЧЕЊЕ – ПРИРОДА И ДЕЈСТВО

Јонизујуће зрачење је јак мутагени агенс у природи и саставни део средине у којој човек настаје, 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 на организам зависи од низа фактора међу којима су врста зрачења, величина дозе, дужина излагања, радиоосетљивост имуног система и стање 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 ($\cdot\text{OH}$, $\text{H}\cdot$, H , 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 $\cdot\text{OH}$ 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. 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 једро, у стању је да изазове двоструки прекид ланца DNK 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 гама зраци) енергија је распршена по читавој ћелији, а лезије које настају појединачним јонизацијама су распоређене по принципу случајности. Уколико свака лезија DNK 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 (АОС)

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).

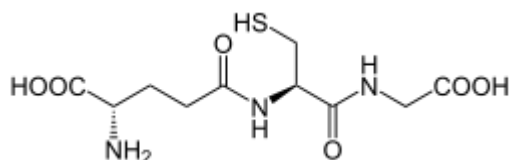
У циљу одржања ROS-а у уском опсегу физиолошких концентрација, аеробни организми су развили комплексан систем регулације којим се ниво ових молекула може одржати на оптималном нивоу (22). Део овог сложеног механизма чине и антиоксиданти. Према Halliwell-у и Gutteridge-у (23) главни критеријум по коме 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 С (аскорбинска киселина), Витамин Е (алфа-токоферол), редуковани глутатион (GSH), тиреодоксин (Trx), алфа-липоинска киселина (ALA);

2. Ензимски антиоксиданси: супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT) и глутатион пероксидаза (GSH-Px).

1.3. РЕДУКОВАНИ ГЛУТАТИОН (GSH)

Глутатион је антиоксиданс који се састоји из три аминокиселине: глутаминске, цистеина и глицина (слика 3). Има га у свим ћелијама нашег организма (0-11 μM), највише га има у ћелијама јетре (до 10 μM), затим слезине, 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 хидроксил 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).



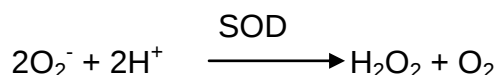
Слика 3. Структурна формула редукованог глутатиона (GSH)
(http://sr.wikipedia.org/sr/Antioksidativna_zastita)

Захваљујући свом редукујућем потенцијалу, GSH помаже обнављање активних форми других антиоксиданата као што су витамин С и Е (29). Битна је његова улога у контроли имуног одговора организма тако што помаже презентацију антигена лимфоцитима чиме утиче на производњу цитокина и врсти одговора (ћелиског или хуморалног), повећава пролиферацију лимфоцита, побољшава активност цитотоксичних Т ћелија и НК ћелија. Новија истраживања указују да GSH регулише и ћелијску апоптозу (30). Он игра кључну улогу у бројним метаболичким и биохемијским реакцијама, као што су DNK синтеза и поправка, 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 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 аминокиселинуријом (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 позната три изоформе овог ензима, а разликују се по металу присутном у активном центру: *бакар-цинк супероксид дисмутаза* (CuZnSOD, SOD1), *манган супероксид дисмутаза* (MnSOD, SOD2), *екстрацелуларна супероксид дисмутаза* (ES-SOD, SOD3).

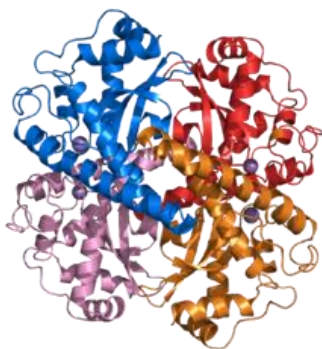
1. *Бакар-цинк супероксид дисмутаза* (CuZnSOD, SOD1) је хомодимер молекулске тежине 32.5 kD (слика 6). У активном центру садржи бакар који је неопходан за каталитичку активност и цинк који доприноси стабилности ензима (36). Код човека ген за овај ензим се налази на хромозому 21 (37). Код особа са Дауновим 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 6. 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 7). Активност MnSOD чини 10-15% од укупне SODактивности 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).

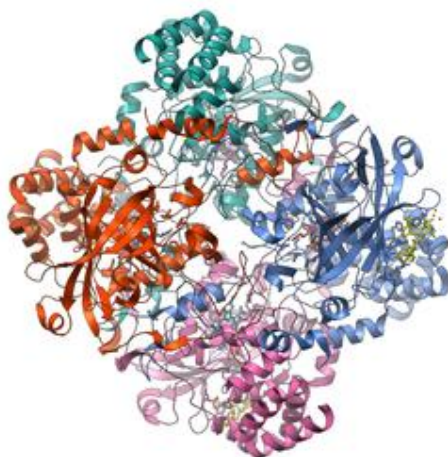


Слика 7. Тродимензионална структура манган супероксид дисмутаза
(http://en.wikipedia.org/wiki/Superoxide_dismutase)

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).

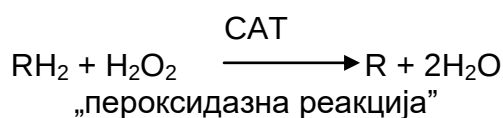
1.4.2. Каталаза (CAT)

Каталаза (EC 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 8). 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).

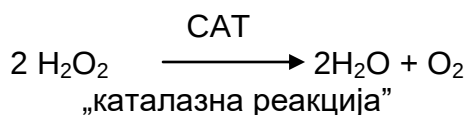


Слика 8. Тродимензионална структура CAT
(<http://en.wikipedia.org/wiki/Catalase>)

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 окисдовани уз утрошак једног молекула H_2O_2 .

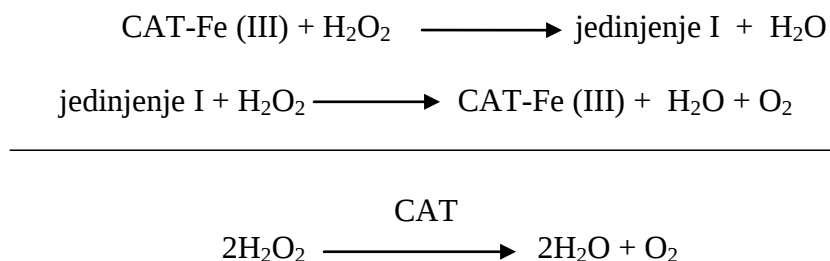


При високим концентрацијама H_2O_2 CAT га разлаже великом брзином у такозваној „каталазној реакцији” где се H_2O_2 понаша и као донор и као акцептор молекула водоника (52).



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).

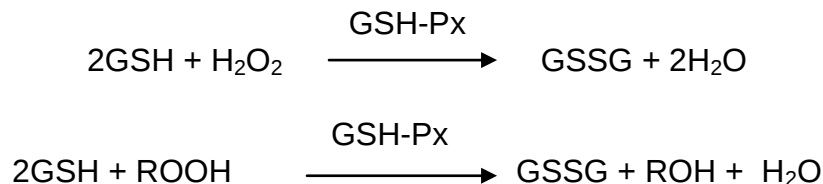


Један молекул каталазе разгради око 6×10^6 молекула водоник пероксида за један минут кад су његове концентрације високе (52).

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 9). 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.



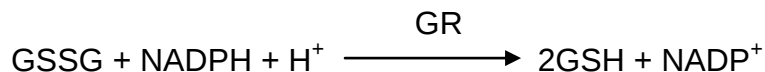
До сада су код сисара идентификоване четири селен-зависне изоформе овог ензима: целуларна GPx (GPx1), гастроинтестинална GPx (GPx2), екстрацелуларна GPx (GPx3) и фосфолипид хидропероксид GPx (GPx4). Осим ових селен-зависних, у сисарским ткивима су присутне и четири селен-независне изоформе GPx: GPx5, 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 пероксидаза 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 9. Тродимензионална структура глутатион-пероксидазе (GSH-Px)
(http://en.wikipedia.org/wiki/Glutathione_peroxidase)

1.4.4. Глутатион редуктаза (GR)

Глутатион редуктаза (GR) (EC1.8.1.7) је флавопротеин који у активном центру садржи редокс активну дисулфидну групу (слика 10). 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 (67).



Слика 10. 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 редукције молекулског кисеоника мањим бројем електрона у око 2-5% случајева 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 способности 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 малој 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 слободне радикале карактеристичне су три фазе: *фаза иницијације*, *фаза пропагације* и *фаза терминације* (80).

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

У *фази пропагације* новонастали слободни радикал активира околне хемиске 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 наћин добије се низ везаних ланчаних реакција које се саме пропaгирају.

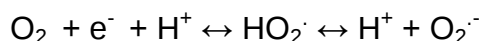
Фаза терминације је период заустављања, неутрализације слободних радикала и њихове пропагације. За овај тип реакције задужени су: неензимски антиоксиданси, ензимски антиоксиданси и судар два слободна радикала. Овај систем антиоксиданаса пружа заштиту од токсичног дејства ROS-а, и то не само од слободних радикала кисеоника, попут супероксид ањон радикала ($O_2^{\cdot-}$), хидропероксил радикала ($HO_2^{\cdot}$) и хидроксил радикала ($OH^{\cdot}$), већ и од реактивних врста кисеоника који нису радикали, као синглет кисеоника (O_2) и водоник пероксида (H_2O_2) (81). Друге реактивне врсте кисеоника и азота, као што су органски пероксиди, алкоксил ($RO^{\cdot}$) и пероксил ($RO_2^{\cdot}$) радикали, пероксинитрит ($ONOO^-$) и азот оксид ($^{\circ}NO$), продукти су интеракције угљеникових и азотних радикала са O_2 (82).

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

1.5.1 Супероксид ањон радикал ($O_2^{\cdot-}$)

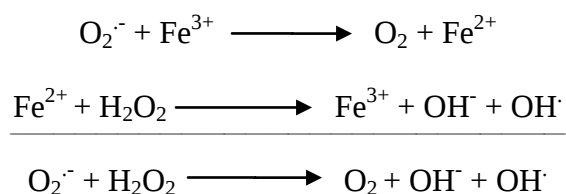
Супероксид ањон радикал ($O_2^{\cdot-}$) настаје једноелектронском редукцијом молекулског кисеоника (84).

Супероксид ањон радикал се јавља у два облика у зависности од рН вредности средине. У физиолошким рН вредностима доминантан је облик супероксид ањон радикала ($O_2^{\cdot-}$), док на нижим вредностима рН преовлађује облик хидропероксил радикала ($HO_2^{\cdot}$) (85).



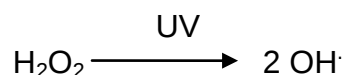
Овај радикал настаје у скоро свим аеробним ћелијама у току електронског транспорта, у митохондријама и ендоплазматском ретикулуму (49). Такође настаје и као споредан производ у неким реакцијама које катализују оксидазе и оксигеназе. Ксантин оксидаза катализује хидроксилацију пурина (86). Настаје и као 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-Weissoвој реакцији у којој $\text{O}_2^\cdot$ и H_2O_2 у присуству Fe^{3+} формирају екстремно реактивни хидроксил радикал ($\text{OH}^\cdot$) (91):

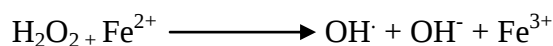


1.5.2 Хидроксил радикал ($\text{OH}^\cdot$)

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. $\text{OH}^\cdot$ лако дифундује кроз ћелијску мембрану и степен оксидативних оштећења у ћелији је ограничен стопом дифузије. У организму $\text{OH}^\cdot$ може настати као последица деловања јонизујућих зрачења када долази до радиолизе молекула воде или водоник пероксида путем UV-зрачења (93).



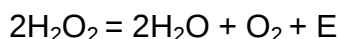
Главни извор настанка хидроксил радикала *in vivo* је Фентонова реакција. Донор електрона је феро јон Fe^{2+} .



Важно је нагласити да не постоји ниједан специфични антиоксидативни механизам којим би се успешно контролисала екстремна реактивност $\text{OH}^\cdot$, што истиче значај антиоксидативних стратегија које се заснивају на спречавању његове продукције. У ове стратегије спадају дисмутација $\text{O}_2^{\cdot-}$, разлагање H_2O_2 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 сулфихидрилних 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 (HOCl) 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 ($\text{O}_2^{\cdot}$)

Синглет кисеоник није радикал јер нема неспарених електрона. Може настати екситацијом 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 ($\text{NO}^{\cdot}$)

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 (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. То се постиже појачаним стварањем O_2 на месту повреде и уклањања $\text{NO}^{\cdot}$ (што има за последицу сужавање крвних судова) и до његовог превођења у моћан микробицидни агенс. Овим се активирају и одређени сигнални путеви који активирају проинфламаторне процесе чиме се спречава инфекција (102).

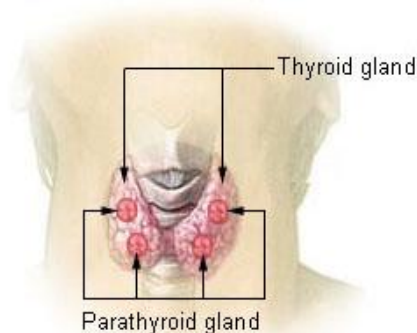
1.6 ШТИТАСТА ЖЛЕЗДА (*Glandula thyreoidea*, тиреоидна жлезда)

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 12). Основна јединица грађе штитасте жлезде је фоликул. Епител који гради фоликул има један ред ћелија које су коцкастог облика окренутих 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 (ТСТ). Штитаста жлезда ствара и секретује хормоне тетрајодтиронин (тироксин Т4), тријодтиронин (Т3), реверзни тријодтиронин (rТ3) и тиреокалцитонин. За стварање тирокина (Т4) и тријодтиронина (Т3) 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 тиреоглобулин. Овакав тиреоглобулин се депонује у средини фоликула у виду колоида (106). Секреција и стварање хормона Т4 и Т3 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 тиреоидних 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). Тиреоидни 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 С 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 12. Тиреоидна 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 (ПТК) (122; 123), док његов дефицит може допринети настанку фоликуларног тиреокарцинома (ФТК) (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):

I. Епителијални тумори:	II. Неепителијални тумори:
A. Бенигни тумори	A.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
a. вретенастих ћелија	4.тератоми
b. џиновских ћелија	IV.Секундарни тумори
c. малих ћелија	V.Некласификовани тумори
5. медуларни карцином	VI.Туморолике промене

Табела 1. Патохистолошка подела тумора штитасте жлезде

Папиларни (ПТК), фоликуларни (ФТК), 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 (ПТК) 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 (ФТК) 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 Л-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. Тераписки 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 скинтиграм на коме се може видети дали има метастаза и где. Радиојодној терапији претходи скинтиграфија целог тела са дозом од 74-185 MBq ^{131}I (13), а која се спроводи 4-6 недеља након хируршке интервенције. Неки аутори подржавају скинтиграфију 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 скинтиграфски налаз позитиван примењује се радиојодна терапија. Сматра се да лечење треба применити и код негативног скинтиграфског 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 (ATA), Европско удружење за штитасту жлезду (ETA), 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 поделити 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 испеху 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.

1.6.2.1. 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 (rh TSH) 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.

1.6.2.2. Смештај пацијента у терапијски блок

Извор ^{131}I се добија у оригиналном, 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, ЕКГ, 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).

1.6.2.3. Нежељени ефекти терапије ^{131}I

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 пљувачне 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. Сијалoadенитис 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 ^{131}I избог 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 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 .

1.6.2.4. 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 скинтиграфија 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 скинтиграм. Апликује се доза од 111 MBq ^{131}I и након 48h до 72h ради се whole body скинтиграфија (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 код 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 ($\text{O}_2^{\bullet-}$), водони 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 ^{131}I пацијентима се саветовала дијета сиромашна јодом (дневно око 25-75mg) 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 > 30mIU/L, када им је апликована аблациона доза радиоактивног јода ^{131}I 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. дан, затим 3. дан, 7. дан и 30. дан након терапије радиоактивним јодом ^{131}I . 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 ^{131}I пацијентима се саветује дијета сиромашна јодом (дневно око 25-75mg) 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 очитава 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

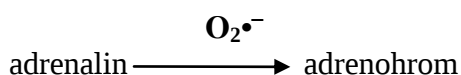
Хематолошки параметри који су мерени били су: број леукоцита ($Le \times 10^9/L$), број еритроцита ($Er \times 10^{12}/L$), концентрација хемоглобина (Hgb g/L), хематокрит (Hct L/L) и број тромбоцита ($Tr \times 10^9/L$). Вредности су одређиване у аутоматском анализатору COULTER AC•T diff Analyzer (Beckman 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), 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 $O_2^{\bullet-}$ и при томе инхибира реакцију аутооксидације адреналина која се прати спектрофотометријски, променом апсорбанце на 480nm. Проценат 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 0,1mM EDTA, pH=12) и 0,1ml адреналина раствореног у 0,1M HCl, додаје се 0,01ml етанолске фракције. Аутооксидација адреналина се прати 4 минута на 480nm. Реакција је стабилна на температури од 26-30°C. Упоредо се мери и контролна реакција (реакциона смеша без узорка). Проценат инхибиције аутооксидације адреналина у присуству SOD из узорка, у односу на контролну реакцију аутооксидације адреналина се користи за израчунавање активности SOD по следећој једначини:

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

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

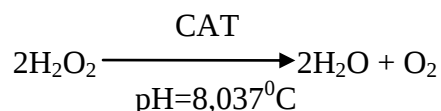
Hb - количина хемоглобина у g/100 ml лизата

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 (1977). Брзина разградње водоник пероксида (H_2O_2) је праћена спектрофотометријски у присуству CAT на таласној дужини од 230nm. 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 230nm. Контрола узорка садржи све компоненте пуфера осим 10mM H_2O_2 и показатељ је неспецифичне разградње H_2O_2 :



Експериментални поступак:

у кварцну кивету се сипа 0,05ml TRIS пуфера (1M TRIS-HCl, 5mM EDTA, pH=8,0), 0,900-0,945ml 10mM H_2O_2 и 0,005-0,05ml узорка (у зависности од активности каталазе). Разградња H_2O_2 почиње одмах по додавању узорка у реакциону смешу. Опадање апсорбанце на таласној дужини од 230nm 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 $1\mu\text{mol } H_2O_2$ по минути на температури од $37^{\circ}C$ и pH 8,0. Активност CAT изражена у јединицама по милиграму протеина (jed./mg prot.) се израчунава по следећој формули:

$$\text{CAT (jed./mg prot.)} = \frac{R \times \text{neto A230/min}}{C_p \times V \times e}$$

R – разблажење узорка у коме се мери активност CAT

нето A230/мин – разлика између A230/мин у узорку и контроли узорка

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

V – волумен разблаженог узорка, додатог у 1ml реакционе смеше

e – милимоларни екстинкциони коефицијент за H₂O₂ на 230nm, 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-нитробензоевом киселином тј. Елмановим реагенсом (DTNB). GSH екстракт је добијен комбиновањем 0,1ml 0,1% EDTA, 400μl плазме и 750μl кондезованог раствора (који садржи 1,67g метафосфорне киселине, 0,2g EDTA, 30g NaCl допуњеног дестилованом водом до 100ml). 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). 300μl плазме, 750μl Na₂HPO₄ и 100μl DTNB (1mg 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 1,5mmol/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 40μl 1mM GSH раствора и 300μl дестиловане воде. Мерење апсорбанце (A) се изводи на λ_{max}=420 nm. За добијање финалне апсорбанце (ΔA), вредност слепе пробе апсорбанце (B) се одузима од апсорбанце (A). Да би се израчунала концентрација GSH у плазми користи се следећа формула:

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

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

3.5. ОДРЕЂИВАЊЕ ОКСИДАТИВНИХ ПАРАМЕТАРА (ПАРАМЕТАРА ОКСИДАТИВНОГ СТРЕСА)

Од оксидативних параметара (параметара оксидативног стреса) мерени су: индекс липидне пероксидације (TBARS), концентрација супероксид анјон радикала ($\text{O}_2^{\cdot-}$), водоник пероксида (H_2O_2) и азот оксида ($\cdot\text{NO}$).

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 (TBA - 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 0,4ml 28% тиобарбитурне киселине (TBA) и 0,8ml плазме и инкубира у леденом купатилу (-4°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 (12 x 100mm) пипетира се 800 μl супернатанта плазме који се помеша са 200 μl 1% TBA у 0,05M NaOH и инкубира у воденом купатилу 15 минута на 100°C . Након

инкубације узорак се охлади на собној температури, а концентрација ослобођених TBARS се мери спектрофотометријски на таласној дужини од 530nm. У слепој проби се уместо екстракта плазме користи еквивалентна количина дестиловане воде.

Δ Концентрација ослобођених TBARS израчунава се на основу следеће једначине:

$$\text{nmol TBARS/ml plasma} = \Delta A (\text{Au} - \text{Asp}) / 1,56 \times 1,25$$

Au – апсорбанца узорка

Asp – апсорбанца следеће пробе

1,56 и 1,25 – корекциони фактори

3.5.2. Одређивање концентрације супероксид анјон радикала ($\text{O}_2^{\bullet-}$)

За одређивање концентрације супероксид анјон радикала ($\text{O}_2^{\bullet-}$) у крвној плазми користи се реакција $\text{O}_2^{\bullet-}$ са нитро тетразолијум плавим (NBT- Nitro Blue Tetrazolium) до формирања нитроформаза плавог (179).

Експериментални поступак:

у епрувете (12x100mm) пипетирати 50μl плазме и 950μl есејне смеше (50mM TRIS-HCL пуфера (pH=8,6), 0,1mM EDTA, 0,1mg/ml желатина и 0,1mM NBT). Мерење се врши на таласној дужини максималне апсорбције од 550nm. 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 слепоу пробу.

Концентрација ослобођеног супероксид анјон радикала ($\text{O}_2^{\bullet-}$) израчунава се на основу следеће једначине:

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

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

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

$$\text{nmol O}_2^{\bullet-}/\text{ml plazme} = \Delta E / 0,015 \times 1/0,05$$

3.5.3. Одређивање концентрације водоник пероксида (H_2O_2)

Одређивање концентрације H_2O_2 у квној плазми рађено је по методи Pick and Keisari-a (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 610nm. Ова метода омогућује детерминацију настајања и ослобађања H_2O_2 за временски период од 5-60 минута.

Експериментални поступак:

у епрувете (12x100mm) сипати 200ml плазме и 800ml свеже направљеног раствора фенол црвеног (PRS - Phenol Red Solution ПРС) који садржи 140mM NaCl, 10m калијум фосфатног пуфера (pH=7,0), 5,5mM D(+) глукозе и 0,28mM фенол црвеног. Узорцима додати по 10ml (1:20) HRPO, припремљеног еу темпоре. Узорке оставити на собној температури 10 минута, а затим подесити pH на више од 12 помоћу 1M NaOH. Као слепа проба се уместо плазме користи иста количина дестиловане воде. У коронарном венском ефлуенту израчунава се концентрација ослобођеног H_2O_2 на основу калибрационог дијаграма (стандардне криве) која се одређује за сваки есеј. За формирање стандардне криве користи се стандардни (стоцк) расвор H_2O_2 , уз претходну проверу концентрације (A_{230} за 10mM H_2O_2 износи 0,810). Уместо коронарног венског ефлуента, у три епрувете пипетирати: 5, 10 и 20ml 1mM раствора H_2O_2 , 200ml дестиловане воде, 800ml раствора фенол црвеног и 10ml (1:20) HRPO. То се инкубира 10 минута на собној температури, а затим додавањем 1M NaOH (10ml) подеси pH>12. У стакленим киветама запремине 1ml у спектрофотометру (LKB Biochrom, model Ulltrospec 4050ЛКБ) мери се апсорбанца (A) на таласној дужини 610nm. Од добијене апсорбанце одузима се

вредност слепе пробе (B) чиме се добија коначна апсорбанца (DA). Концентрација и количина ослобођеног H_2O_2 у коронарном венском ефлуенту израчунава се на основу фактор апсорбанце (F) по једном нмол-у водоник пероксида:

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

Финална апсорбанца (ΔA) се израчунава на основу апсорбанце узорка на лмац=610nm (Au) и апсорбанце слепе пробе (Asp) 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 (200ml) израчунава се концентрација и количина H_2O_2 у коронарном венском ефлуенту по формули:

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

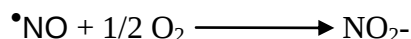
3.5.4. Одређивање концентрације азот оксида ($\cdot\text{NO}$)

Азот оксид ($\cdot\text{NO}$) се брзо разлаже при чему се формирају стабилни метаболити производа нитрита/нитрата. Имајући у виду да $\cdot\text{NO}$ 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 0.1ml 3M PCA, 0.4ml 20mM EDTA и 0.2ml плазме. Све заједно инкубирати у леденом купатилу на -4°C око 15 минута, а после тога центрифугирати 15минута на 6000 обртаја. Добијени супернатант се одлије, а преципитат се дода у 2M K_2CO_3 до pH=7,4. 0.2ml екстракта плазме се дода 0.25 Грисеовог реагенса и амонијум пуфера (pH=9)(садржи амонијум хлорид NH_4Cl и нодиум тетраборат $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) и пипетира се у тест тубе (12x100) како би се стабилизовао диазо комплекс на собној температури 10min. 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 550nm. Концентрација ослобођених нитрита изражена је у нмол/мл екстракта.



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

$$\frac{\text{ekstinkcija slepe probe}}{\text{koncentracija NaNO}_2 \text{ u standardu}}$$

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

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 Wilcoxon 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 скаттер дијаграмом. Разлике међу добијеним вредностима сматрамо значајним на нивоу $p < 0,05$.

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. ХЕМАТОЛОШКИ ПАРАМЕТРИ

4.1.1. ЛЕУКОЦИТИ (Le)

Табела 1. Вредности аритметичке средине и стандардне девијације за леукоците нултог(Le 0.), трећег(Le 3.), седмог(Le 7.) и тридесетог дан(Le 30.) након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq¹³¹I.

Варијабле	Доза(GBq)	AS ($\times 10^9/L$)	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 2. Утицај времена, дозе и интеракције ова два параметра на промену вредности леукоцита након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq¹³¹I.

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

У табели 2. 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 3. Промена вредности леукоцита у суседним временским интервалима након излагања дози од 3,70 GBq¹³¹I.

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

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

Подаци из табеле 3. и слике 1. указују на снижене вредности леукоцитау прва три дана ($p=0,000$), као и у интервалу између 7. и 30. дана ($p=0,006$) након излагања дози од 3,70 GBq¹³¹I.

Табела 4. Промена вредности леукоцитау суседним временским интервалима након излагања дози од 5,55 GBq I¹³¹.

Варијабле	Интервали	р	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

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

Статистички значајна снижена вредност леукоцита уочена је у прва 3 дана ($p=0,016$), као и у интервалу између 7. и 30. дана од примене терапије¹³¹I од 5,55 GBq ($p=0,001$) (табела 4. и слика 2.).

Табела 5. 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 GBq¹³¹I.

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

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

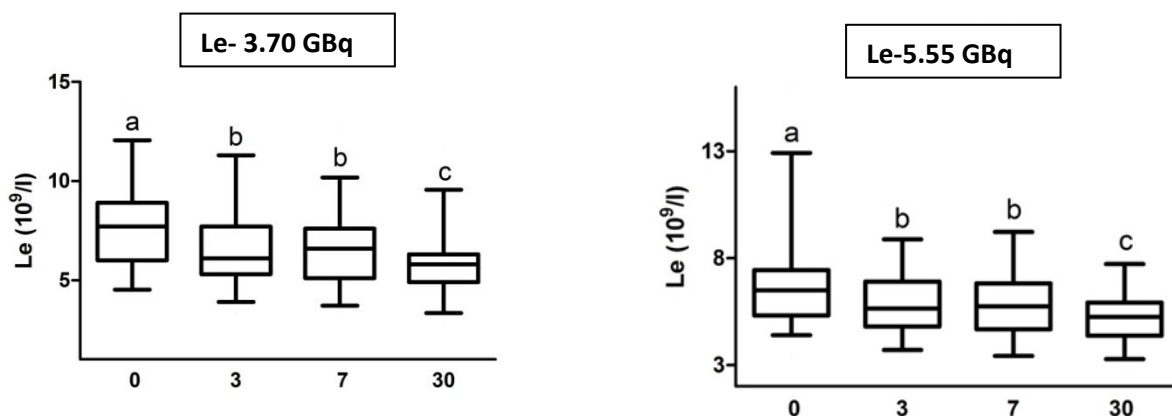
Подаци из табеле 5. и слике 1. показују да су након примене дозе од 3,70 GBq¹³¹I вредности леукоцита у 3., 7. и 30. дану статистички значајно снижене ($p=0,000$; $p=0,000$; $p=0,000$) у односу на вредност пре терапије (0. дан).

Табела 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 5,55 GBq¹³¹I.

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

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

Из података приказаних у табели 6. и слике 2. се види да су вредности леукоцита у 3., 7. и 30. дану након излагања дози од 5,5 GBq¹³¹I статистички значајно снижене (p=0,016; p=0,006; p=0,000) у односу на вредност пре примене терапије(0. дан).



Слика 1. Концентрације Le 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 ($p < 0.05$, Paired t-тест)

Слика 2. Концентрације Le 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 ($p < 0.05$, Paired t-тест)

Табела 7. 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 ($\times 10^9/\text{L}$)	t	p
Le 3 ($\times 10^9/\text{L}$)	3,70 GBq	6,56	0,65	1,452	0,152
	5,55 GBq	5,91			
Le 7 ($\times 10^9/\text{L}$)	3,70 GBq	6,43	0,61	1,425	0,159
	5,55 GBq	5,82			
Le 30 ($\times 10^9/\text{L}$)	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 7.).

4.1.2. Еритроцити (Er)

Табела 8. 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 ($\times 10^{12}/\text{L}$)	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 9. Утицај времена, дозе и интеракције ова два параметра на промену вредности еритроцитанакон излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq¹³¹I.

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

Подаци из табеле 9. 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 не утичу значајно (p=0,990).

Табела 10. Промена вредности еритроцита у суседним временским интервалима након излагања дози од 3,7 GBq¹³¹I.

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 значајанесниженевредностиеритроцитакод пацијената који су примили ¹³¹Iу дози од 3,70 GBqуочена је у прва три дана (p=0,000)и у интервалу између 7. и 30. дана (p=0,001)након примене терапије (табела 10. и слика 3).

Табела 11.Промена вредности еритроцита у суседним временским интервалима након излагања дози од 5,55 GBq¹³¹I.

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 11. и слици 4.показују да се статистички значајнесниженевредности еритроцитакод пацијената који су примили ^{131}I у дози од5.55 GBqјављају у прва три дана($p=0,003$)и између 7. и 30. дана($p=0,000$)након примене терапије.

Табела 12.Промене вредности еритроцита у трећем(Er 3.), седмом(Er 7.)и тридесетом дану(Er 30.) у односу на нулти дан(Er 0.) од излагања дозиод3,70 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 – т-тест; p – значајност

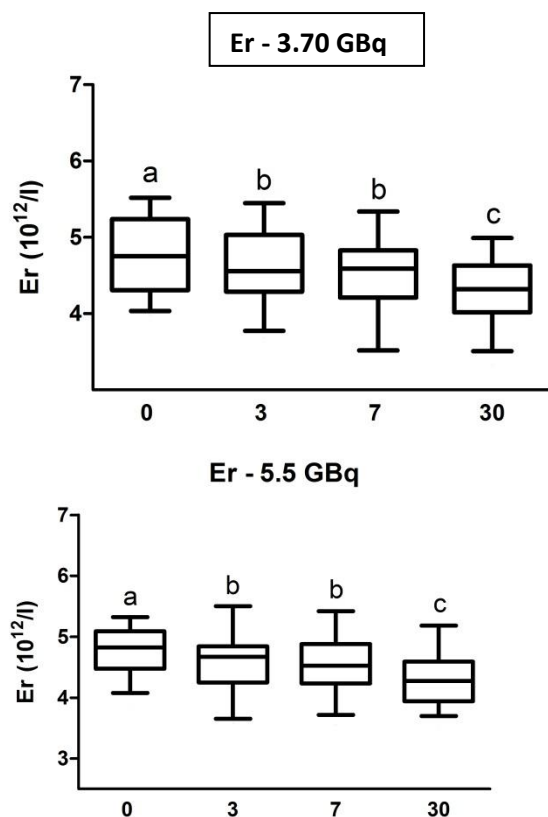
У табели 12. и слици 3. се види да су у све три временске тачке (3., 7. и 30. дан) вредности еритроцита статистички значајно снижене ($p=0,000$; $p=0,000$; $p=0,000$)у односу на вредностпре примене терапије ^{131}I .

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 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		

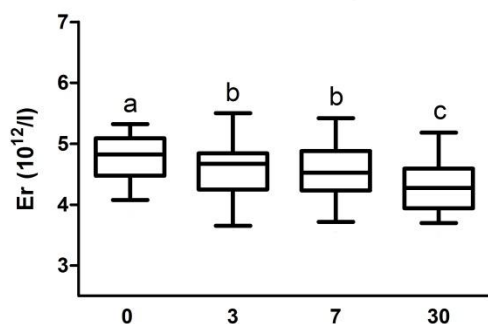
AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; t – т-тест; p – статистичка значајност

Из резултата приказаних у табели 13. и слици 4. 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 3. Концентрације Ег у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,7 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 ($p<0.05$, Paired t-тест)

Er – 5.55 GBq



Слика 4. Концентрације Ег 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 ($p<0.05$, Paired t-тест)

Табела 14. Дозни ефекат ^{131}I на број еритроцита у трећем (Le 3.), седмом (Le 7.) и тридесетом дану (Le 30.) од аплицирања 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I .

Варијабле	t	p	Разлика AS($\times 10^{12}/\text{L}$)
-----------	---	---	--

Er 3	0,033	0,973	0,00
Er 7	0,269	0,789	-0,04
Er 30	0,201	0,841	-0,02

Варијабла			Разлика AS($\times 10^{12}/L$)	t	p
Er 3($\times 10^{12}/L$)	3,70 GBq	4,59	0,00	0,033	0,973
	5,55GBq	4,59			
Er 7($\times 10^{12}/L$)	3,70 GBq	4,50	-0,04	0,269	0,789
	5,55 GBq	4,54			
Er 30($\times 10^{12}/L$)	3,70 GBq	4,31	-0,02	0,201	0,841
	5,55GBq	4,33			

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

Тестирање разлика у дозном ефекту зрачења на вредност еритроцита 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 14.).

4.1.3. Хемоглобин (Hgb)

Табела 15. Вредности аритметичке средине и стандардне девијације за хемоглобин нултог(Hgb 0.), трећег(Hgb3.), седмог(Hgb 7.) и тридесетог дана(Hgb 30.) након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq¹³¹I.

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 узорак

Табела 16. Утицај времена, дозе и интеракције ова два параметра на промену вредности хемоглобина након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq¹³¹I

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

Подаци из табеле 16. показују да након терапије ^{131}I 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 17. Промена вредности хемоглобина у суседним временским интервалима након излагања дози од $3,70 \text{ GBq } ^{131}\text{I}$.

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 17. и слике 5. показују да се статистички значајно снижене вредности хемоглобина јављају у сва три посматрана временска интервала након примене ^{131}I у дози од $3,7 \text{ GBq}$ ($p=0,000$; $p=0,006$; $p=0,000$).

Табела 18. Промена вредности еритроцита у суседним временским интервалима након излагања дози од $5,55 \text{ GBq } ^{131}\text{I}$.

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 18. и слици 6. указују на статистички значајно снижене вредности хемоглобина након примене ^{131}I у дози од $5,55 \text{ GBq}$ у сва три посматрана временска интервала ($p=0,005$; $p=0,024$; $p=0,000$).

Табела 19. Промене вредности хемоглобина у трећем (Hgb3.), седмом (Hgb 7.) и тридесетом (Hgb30.) дану у односу на нулти дан (Hgb 0.) од излагања дози од $3,70 \text{ GBq } ^{131}\text{I}$.

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

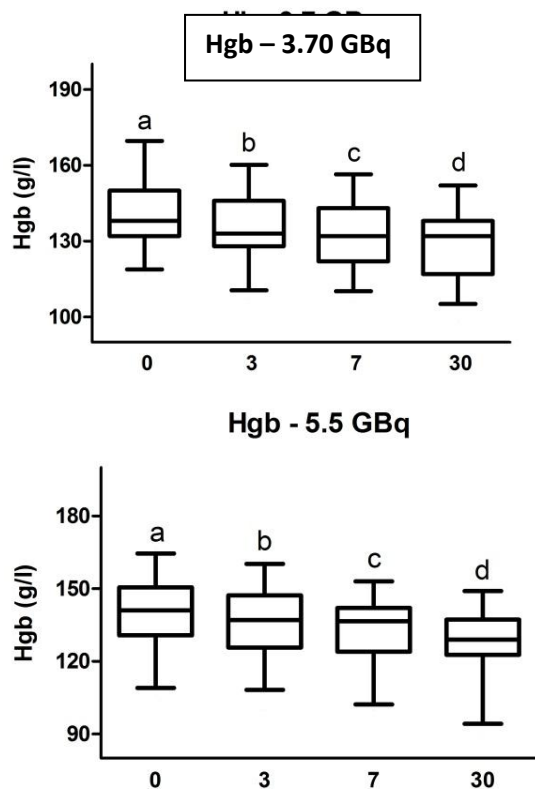
Након примене терапијске дозе ^{131}I у дози од 3,70 GBq вредности хемоглобина су у све три посматране временске тачке (3., 7. и 30. дан) статистички значајно снижене ($p=0,000$; $p=0,000$; $p=0,000$) у односу на вредност хемоглобина пре примене терапије (Hgb 0.) (табела 19. и слика 5.).

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 5,55 GBq ^{131}I .

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		

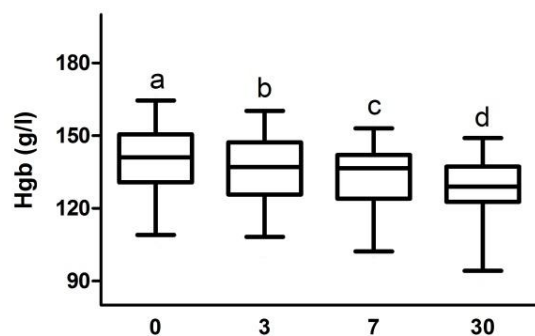
AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; t – t-тест; p – статистичка значајност

Подаци из табеле 20. и слике 6. 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 ^{131}I од 5,55 GBq (Hgb 0.).



Слика 5. 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 т-тест)

Hgb -5.55 GBq



Слика 6. 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 т-тест)

Табела 21. Дозни ефекат ¹³¹I на вредност хемоглобина у трећем(Hgb3.), седмом (Hgb7.)и тридесетом дану (Hgb30.) од аплицирања 3,70 и 5,55 GBq ¹³¹I.

Варијабле	t	p	Разлика AS(g/L)
Hgb 3	0,204	0,839	-0,73
Hgb 7	0,403	0,689	-1,30
Hgb 30	0,067	0,947	0,22

Варијабла			Разлика AS(g/L)	t	p
Hgb 3(g/L)	3,70 GBq	135,45	-0,73	0,204	0,839
	5,55GBq	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 – t-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 21.).

4.1.4. Хематокрит (Hct)

Табела 22. 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 узорак

Табела 23. Утицај времена, дозе и интеракције ова два параметра на промену вредности хематокрита након излагања дозама од 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I .

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

Резултати приказани у табели 23. показују да након терапије ^{131}I време значајно утиче ($p=0,000$) на промену вредности хематокрита док доза ($p=0,625$) и интеракција ова два параметра ($p=0,873$) не утичу значајно.

Табела 24. Промена вредности хематокрита у суседним временским интервалима након излагања дози од 3,70 GBq¹³¹I.

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

p – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Приказани подаци из табеле 24. и слике 7. показују да се статистички значајане сниженевредности хематокрита јављају у прва три дана (p=0,003) и у интервалу између седмог и тридесетог дана (p=0,000) након примене терапије ¹³¹Iу дози од 3,70 GBq.

Табела 25. Промена вредности хематокрита у суседним временским интервалима након излагања дози од 5,55 GBq¹³¹I.

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

p – статистичка значајност; Eta² – укупни ефекат промена

Резултати из табеле 25. и слике 8. указују на статистички значајане сниженевредности хематокрита у прва три дана (p=0,000) и у интервалу између седмог и тридесетог дана (p=0,000) након примене терапије ¹³¹Iу дози од 5,55 GBq.

Табела 26. Промене вредности хематокрита у трећем (Hct3.), седмом (Hct 7.) и тридесетом (Hct 30.) дану у односу на нулти дан (Hct 0.) од излагања дози од 3,70 GBq¹³¹I.

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	0,42	0,04	9,454	0,000
Hct 30	0,38	0,03		

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

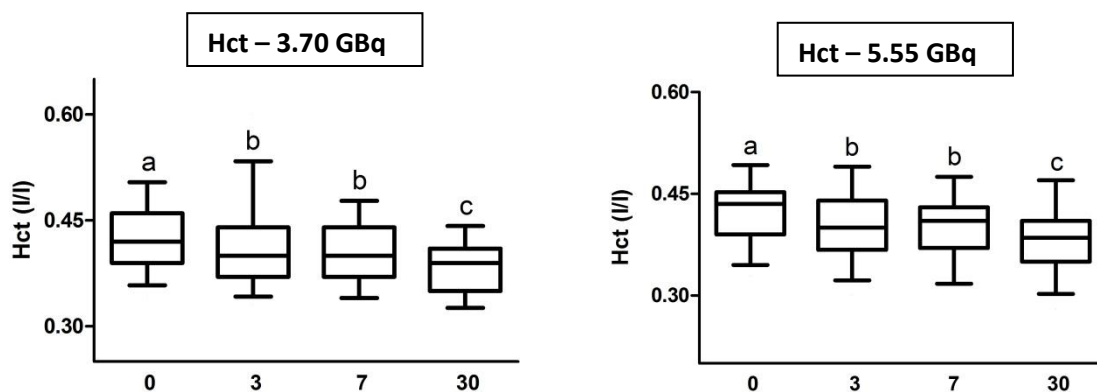
Подаци приказани у табели 26. и слика 7. показују да након примене терапије ^{131}I у дози од 3,70 GBq вредности хематокрита значајно опадају трећег, седмог и тридесетог дана ($p=0,003$; $p=0,000$; $p=0,000$) у односу на нулти дан.

Табела 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 5,55 GBq ^{131}I .

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

AS – аритметичка средина; SD – стандардна девијација; t – т-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 27. и слика 8.).



Слика 7. Концентрације Hct у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене

дозе од 3,70GBq ^{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 ($p < 0.05$, Paired t-тест)

Слика 8. Концентрације Нсту 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 ($p < 0.05$, Paired t-тест)

Табела 28. Дозни ефекат ^{131}I на вредности хематокрита у трећем (Le 3.), седмом (Le 7.) и тридесетом дану (Le 30.) од аплицирања 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I .

Варијабле	t	p	Разлика AS(L/L)
Hct 3	0,329	0,743	0,00
Hct 7	0,142	0,887	0,00
Hct 30	0,002	0,998	0,00

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

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

Подаци приказани у табели 28. 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 ^{131}I (табела 28.).

4.1.5. Тромбоцити (Tr)

Табела 29. 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 ^{131}I .

Варијабле	Доза(GBq)	AS ($\times 10^9/\text{L}$)	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 30. 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 30. 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 31. 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 GBq ¹³¹I (табела 31. и слика 9.).

Табела 32. Промена вредности тромбоцита у суседним временским интервалима након излагања дози од 5,55 GBq ¹³¹I

Варијабла	Интервали	p	Eta ²
	Tr 0 – Tr 3	0,002	0,250

Тромбоцити	Tr 3 – Tr 7	0,108	0,077
	Tr 7 – Tr 30	0,000	0,420

p – статистичка значајност; $E_{\text{та}}^2$ – укупни ефекат промена

Статистички значајане сниженевредности 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 GBq ^{131}I (табела 32. и слика 10.).

Табела 33. 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 GBq ^{131}I .

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

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

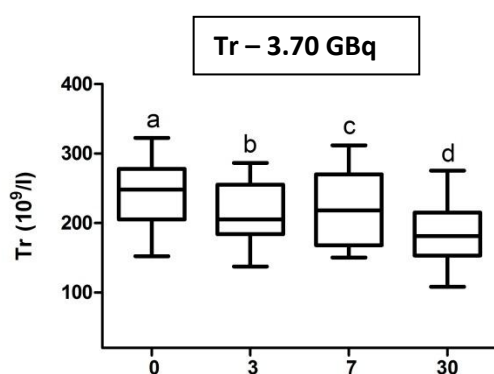
Подаци приказани у табели 33. и слици 9. показују да након примене ^{131}I у дози од 3,70 GBq долази до статистички значајног пада броја тромбоцита у свим посматраним временским тачкама (3., 7. и 30. дан) ($p=0,000$; $p=0,035$; $p=0,000$) у односу на 0. дан.

Табела 34. 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 ^{131}I .

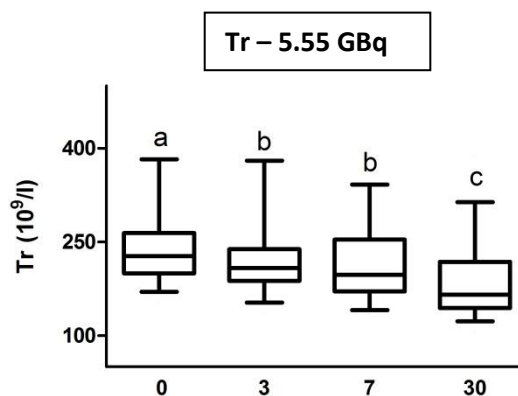
Варијабле	AS ($\times 10^9/\text{L}$)	SD	t	P
Tr 0 Tr 3	241,91 225,53	57,48 64,72	3,317	0,002
Tr 0 Tr 7	241,91 216,15	57,48 58,35	4,063	0,000
Tr 0 Tr 30	241,91 182,35	57,48 56,90	9,441	0,000

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

Након примене ^{131}I у дози од 5,55 GBq долази до статистички значајаног пада броја тромбоцита у 3., 7. и 30. дану ($p=0,002$; $p=0,000$; $p=0,000$) у односу на 0. дан (табела 34. и слика 10.).



Слика 9. Концентрације Тр у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,7 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 ($p<0.05$, Paired t-тест)



Слика 10. Концентрације Тр 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 ($p<0.05$, Paired t-тест)

Табела 35. Дозни ефекат ^{131}I на број тромбоцита у трећем (Le 3.), седмом (Le 7.) и тридесетом дану (Le 30.) од аплицирања 3,70 и 5,55 GBq ^{131}I .

Варијабле	t	p	Разлика AS ($\times 10^9/\text{L}$)
Tr 3	1,048	0,299	-14,56
Tr 7	0,519	0,606	7,24
Tr 30	-0,018	0,986	-0,22

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($\times 10^9/L$)	3,70 GBq	182,13	-0,22	-0,018	0,986
	5,55GBq	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 35.).

4.2. ПАРАМЕТРИ АНТИОКСИДАТИВНОГ СТАТУСА

4.2.1. Индекс липидне пероксидације (TBARS)

Табела 36 . 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 $X^2=0,530$; $p=0,023$

У табели 36. 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 37 . 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 $X^2=29,12$; $p=0,000$

У табели 37. су су приказане вредности медиане и средњих рангова TBARS-a 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I . Резултати Friedman Test-a, приказани испод табеле показују да ова доза индукује статистички значајне промене вредности TBARS-a ($p=0,000$).

Табела 38. Wilcoxon Signed Ranks Test промене TBARS-a по интервалима за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

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-a; p – статистичка значајност

Након дозе од 3,70 GBq ^{131}I ниво TBARS-a језначајно 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-a (табела 38. и слика 11.).

Табела 39. Wilcoxon Signed Ranks Test промене TBARS-a по интервалима за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

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-a; p – статистичка значајност

Након дозе од 5,55 GBq ^{131}I 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 39.и слика 12.).

Табела 40. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности TBARS-а у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

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

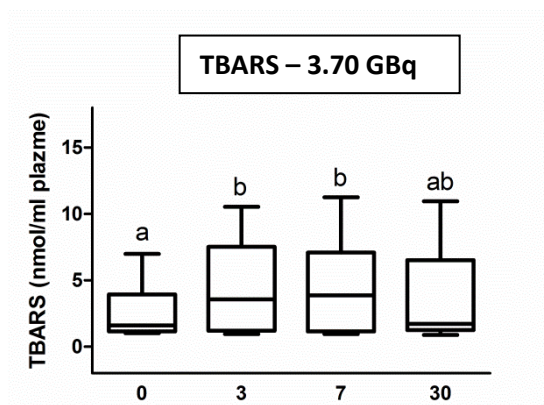
Након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I ниво TBARS-а је статистички значајно повећан 3. ($p=0,011$) и 7. ($p=0,003$) дана у односу на вредност пре терапије (0 дан) (табела 40.и слика 11.).

Табела 41. и слика 12. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности TBARS-а у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

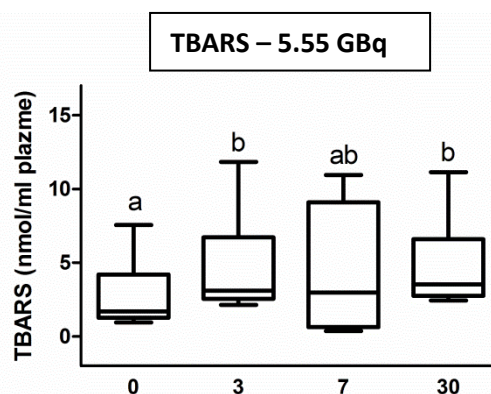
Интервали	z	p
TBARS 0 – TBARS 3	-4,215	0,000
TBARS 0 – TBARS 7	-1,393	0,163
TBARS 0 – TBARS 30	-4,488	0,000

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 41.и слика 12.).



Слика 11. Концентрација TBARS-а у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70GBq ^{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 12. Концентрација TBARS-а 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 42. 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
	5,55GBq	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 ^{131}I 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 од примене ^{131}I (табела 42.)

СУПЕРОКСИД ДИСМУТАЗА (SOD)

Табела 43. Friedman Test вредности SOD са дозой од 3,70 GBq ^{131}I

Време	Медиана(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 43. су приказане вредности медиане и средњих рангова SOD активности 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 SOD ($p=0,011$).

Табела 44. Friedman Test вредности SOD за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

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 44. 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 45. 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 ¹³¹Iy 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 45. и слика 13.).

Табела 46. 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 46. и слика 14.).

Табела 47. 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

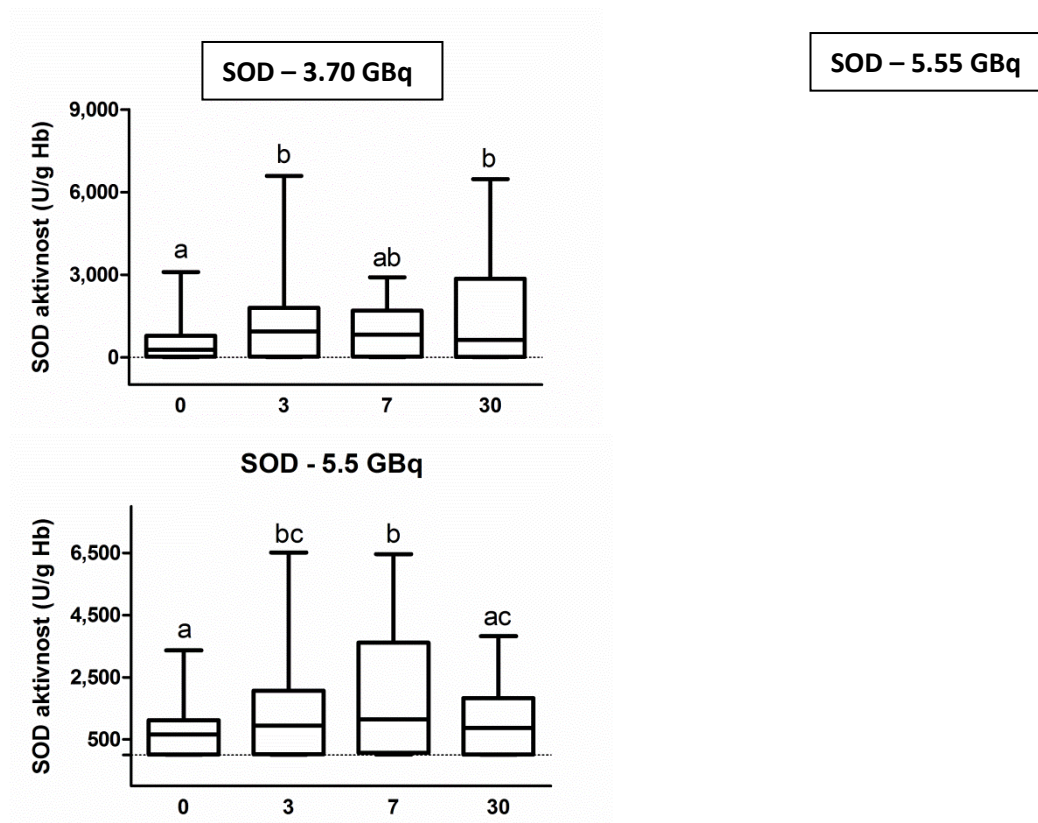
Активност SOD је статистички значајно повећана у 3.($p=0,004$) и 30. дану ($p=0,001$) у односу на 0. дан од примене терапије радиоактивним јодом у дози од 3,70 GBq (табела 47.и слика 13.).

Табела 48. Wilcoxon Signed Ranks Testпромене активности SOD у односу на вредност пре терапије за дозуод 5,55GBq¹³¹I

Интервали	z	p
SOD 0 – SOD3	-2,173	0,030
SOD0 – SOD7	-3,325	0,000
SOD0 – SOD30	-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).(тебела 48.и слика 14.)



Слика 13. Активност SOD у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене

дозе од 3,70GBq 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).

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).

Слика 14. Активност SOD у крви DTC

Табела 49. 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
	5,55GBq	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- вредностиSOD,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 49.).

КАТАЛАЗА (CAT)

Табела 50 . Friedman Test вредности CATза 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 50.су приказане вредности медиане и средњих рангова CAT активности 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70GBq ^{131}I . Резултати Friedman Test-a, приказани испод табеле показују да ова доза не утиче значајно на активност CAT ($p=0,063$).

Табела 51. FriedmanTest вредности CAT за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

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

Табела 52. Wilcoxon Signed Ranks Test промене CAT по интервалима за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
CAT 0 – CAT3	-1,882	0,059
CAT 3 – CAT7	-1,676	0,093
CAT 7 – CAT30	-0,548	0,583

z–вредностиCAT; p – статистичка значајност

Након дозе од 3,70 GBq ^{131}I активности CAT не показују значајне разлике ни у једном од испитиваних суседних временских интервала (табела 52.и слика 15.).

Табела 53. Wilcoxon Signed Ranks Test промене CAT по интервалима за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
CAT 0 – CAT3	-0,419	0,674
CAT 3 – CAT 7	-3,222	0,001
CAT7 – CAT30	-3,565	0,000

z– вредностиCAT; p – статистичка значајност

Након дозе од 5,55 GBq ^{131}I 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 53.слика 16.).

Табела 54. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности CAT у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
CAT 0 – CAT3	-1,882	0,059
CAT 0 – CAT 7	-1,707	0,087
CAT0 – CAT30	-3,067	0,002

z-вредностиCAT; p – статистичка значајност

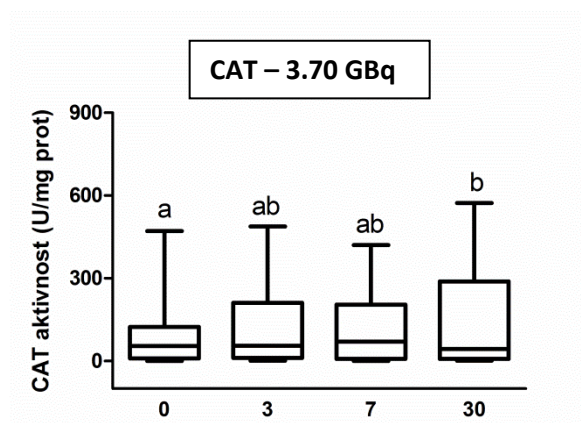
Након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I активности CAT показују статистички значајано снижење вредности 30. дана (p=0,002) у односу на вредност пре примене терапије. У 3. и 7. дану активности CAT нису значајно промењене у односу на 0 дан.(табела 54.и слика 15.).

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

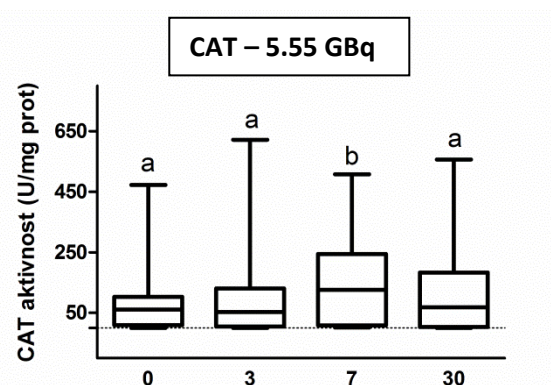
Интервали	z	p
CAT 0 – CAT 3	-0,420	0,674
CAT0 – CAT7	-3,496	0,000
CAT 0 –CAT30	-1,701	0,088

z- вредностиCAT; p – статистичка значајност

Подаци у табели 55. и слика 16. показују да терапија ^{131}I у дози од 5,55GBqстатистички 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 15. Активност CAT у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70GBq ^{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 16. Активност CAT 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 56. Mann-Whitney Test 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
	5,55GBq	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 ^{131}I 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 ^{131}I (табела 56.).

РЕДУКОВАНИ ГЛУТАТИОН (GSH)

Табела 57. Friedman Test вредности GSH за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

Време	Медиана(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 ^{131}I . Резултати Friedman Test-a, приказани испод табеле показују да ова доза индукује статистички значајне промене вредности GSH ($p=0,006$) (табела 57.).

Табела 58. Friedman Test вредности GSH за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

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

$$X^2=29,01; p=0,000$$

За дозу од 5,55 GBq ^{131}I вредности медиане и средњих рангова GSH 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I су приказани у табели 58. Резултати Friedman Test-а, приказани испод табеле, указују да ова доза статистички значајно утиче на промене вредности GSH ($p=0,000$).

Табела 59. Wilcoxon Signed Ranks Test промене GSH по интервалима за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
GSH 0 – GSH3	-1,409	0,159
GSH 3 – GSH 7	-1,676	0,094
GSH7 –GSH30	-2,273	0,023

z- вредност GSH; p – статистичка значајност

Након апликације дозе од 3,70 GBq ^{131}I 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 59. и слика 17.).

Табела 60. Wilcoxon Signed Ranks Test промене GSH по интервалима за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
GSH 0 – GSH 3	-0,317	0,750
GSH3 – GSH 7	-3,701	0,000
GSH7 – GSH30	-3,291	0,000

z- вредност GSH;p – статистичка значајност

Вредности GSH након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I 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 60.и слика 18.).

Табела 61. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности GSH у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
GSH 0 – GSH 3	-1,409	0,159
GSH 0 – GSH 7	-2,783	0,005
GSH0 – GSH 30	-0,216	0,829

z-вредност GSH; p – статистичка значајност

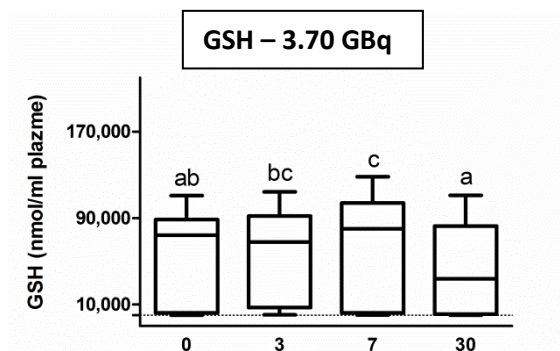
У табели 61. и слици 17. можемо приметити да је пораст вредности GSH седмог дана од примене терапије статистички значајна($p=0,005$) у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ^{131}I . Ниво GSH се не мења значајно 3. и 30. дана у односу на вредности забележене у дану 0.

Табела 62. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности GSH у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

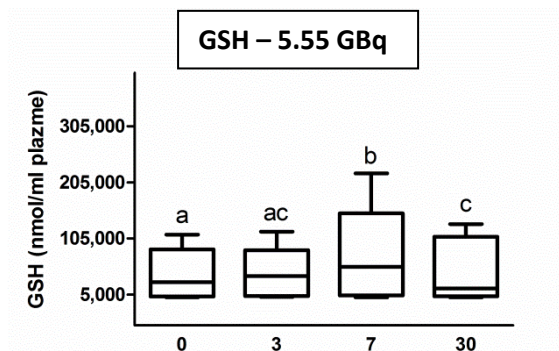
Интервали	z	p
GSH 0 – GSH 3	-0,318	0,751
GSH0 – GSH 7	-4,197	0,000
GSH0 –GSH 30	-2,402	0,016

z- вредност GSH; p – статистичка значајност

Након терапије ^{131}I 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 62.и слика 18.)



Слика 17. Концентрација GSH у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70GBq ^{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 18. Концентрација GSH 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 63. 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
	5,55GBq	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 ^{131}I 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 ^{131}I (табела 63.).

СЛОБОДНИ РАДИКАЛИ

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

Табела 64 . 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 $X^2=2,84$; $p=0,42$

У табели 64. 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-a, приказани испод табеле показују да ова доза не индукује статистички значајне промене вредности $O_2^{\cdot-}$ ($p=0,42$).

Табела 65. 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 $X^2= 20,22$; $p=0,000$

За дозу од 5,55 GBq ^{131}I приказане су вредности медиане и средњих рангова нивоа $\text{O}_2^{\bullet-}$ за 0, 3., 7. и 30. дан након озрачивања. Резултати Friedman Test –а испод табеле показују да ова доза статистички значајно утиче на ниво $\text{O}_2^{\bullet-}$. ($p=0,000$) (табела 65.)

Табела 66. Wilcoxon Signed Ranks Test промене $\text{O}_2^{\bullet-}$ по интервалима за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
$\text{O}_2^{\bullet-} 0 - \text{O}_2^{\bullet-} 3$	-0,855	0,393
$\text{O}_2^{\bullet-} 3 - \text{O}_2^{\bullet-} 7$	-1,151	0,250
$\text{O}_2^{\bullet-} 7 - \text{O}_2^{\bullet-} 30$	-0,010	0,991

z- вредност $\text{O}_2^{\bullet-}$; p – статистичка значајност

Посматрајући табелу 66.и слику 19. види се да нема статистички значајних промена нивоа $\text{O}_2^{\bullet-}$ између суседних временских интервала након излагања дози од 3,70 GBq ^{131}I .

Табела 67. и слика 20. Wilcoxon Signed Ranks Test промене $\text{O}_2^{\bullet-}$ по интервалима за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
$\text{O}_2^{\bullet-} 0 - \text{O}_2^{\bullet-} 3$	-1,941	0,052
$\text{O}_2^{\bullet-} 3 - \text{O}_2^{\bullet-} 7$	-2,385	0,017
$\text{O}_2^{\bullet-} 7 - \text{O}_2^{\bullet-} 30$	-2,658	0,007

z- вредност $\text{O}_2^{\bullet-}$; p – статистичка значајност

У табели 67.и слици 20. се види да постоји статистички значајно снижење нивоа $\text{O}_2^{\bullet-}$ у интервалу од 3.до 7.($p=0,017$) дана и значајно повећање вредности $\text{O}_2^{\bullet-}$ у интервалу од 7. до 30. дана ($p=0,007$) након примене терапије ^{131}I у дози од 5,55 GBq.

Табела 68. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности $O_2^{\sim}$ у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

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

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

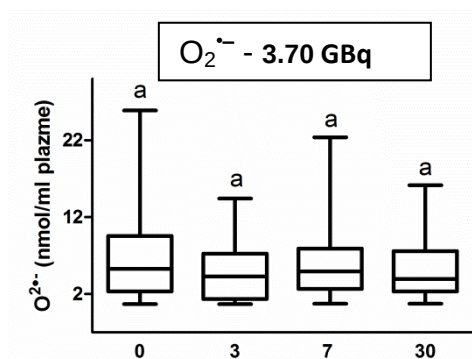
У табели 68.и слици 19. се види да вредности $O_2^{\sim}$ након дозе од 3,70 GBq ^{131}I нису статистички значајно промењене ни у једној испитиваној временској тачки у односу на вредност пре примене терапије.

Табела 69. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности $O_2^{\sim}$ у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

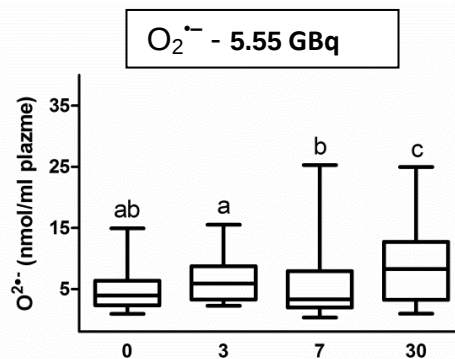
Интервали	z	p
$O_2^{\sim} 0 - O_2^{\sim} 3$	-1,941	0,052
$O_2^{\sim} 0 - O_2^{\sim} 7$	-1,181	0,237
$O_2^{\sim} 0 - O_2^{\sim} 30$	-4,334	0,000

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

Након терапије ^{131}I у дози од 5,55 GBq ниво $O_2^{\sim}$ показује статистички значајно повећање само у 30.дану (p=0,000) у односу на вредност пре примене терапије (0.дан) (табела 69.и слика 20.).



Слика 19. Концентрација $O_2^{\bullet-}$ у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70GBq¹³¹I. „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 20. Концентрација $O_2^{\bullet-}$ у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене

дозе од 5,55 GBq¹³¹I. „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 70. Mann-Whitney Test разлика у ефекту доза од 3,70 и 5,55 GBq на ниво $O_2^{\bullet-}$ 3., 7. и 30. дана након терапије

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

U- вредност $O_2^{\bullet-}$; p – статистичка значајност

Тестирање разлика у ефектима доза од 3,70 GBq и 5,55 GBq¹³¹I на ниво $O_2^{\bullet-}$ у 3., 7. и 30. дану након терапије је показало да дозе различито утичу на промену концентрације овог радикала само у 30. дану од примене¹³¹I (табела 70.).

ВОДОНИК ПЕРОКСИД (H₂O₂)

Табела 71. Friedman Test вредности H₂O₂ за дозу од 3,70 GBq¹³¹I

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

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

У табели 71. су приказане вредности медиане и средњих рангова концентрације H₂O₂ 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70GBq ¹³¹I. Резултати Friedman Test-a, приказани испод табеле показују да ова доза индукује статистички значајне промене нивоа H₂O₂ ($p=0,013$).

Табела 72. FriedmanTest вредности H₂O₂ за дозу од 5,55 GBq¹³¹I

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

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

Подаци у табели 72. приказују вредности медиане и средњих рангова концентрације H₂O₂ у појединим временским тачкама (0, 3., 7. и 30. дан)након излагања дози од 5,55 GBq ¹³¹I. Резултати Friedman Test–а испод табеле показују да ова доза не утиче значајно на вредности H₂O₂($p=0,551$)

Табела 73. Wilcoxon Signed Ranks Test промене H_2O_2 по интервалима за дозу од 3,70 GBq¹³¹I

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 73.и слици 21. се види да нема статистички значајне промене нивоа H_2O_2 ни у једном од суседних временских интервала након примене ¹³¹I у дози од 3,70 GBq.

Табела 74. Wilcoxon Signed Ranks Test промене H_2O_2 по интервалима за дозу од 5,55 GBq¹³¹I

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 74.и слици 22. се види да нема статистички значајних промена H_2O_2 ни у једном од суседних временских интервала након примене ¹³¹I у дози од 5,55 GBq.

Табела 75. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности H_2O_2 у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq¹³¹I

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

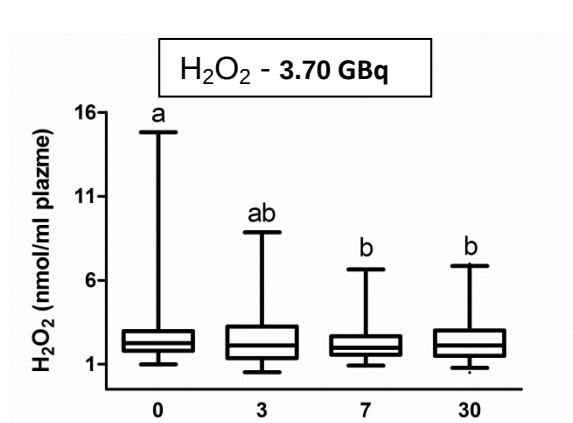
Након терапије ^{131}I у дози од 3,70 GBq ниво H_2O_2 показује статистички значајно снижење 7. и 30. дана ($p=0,006; p=0,027$) у односу на вредност пре терапије (табела 75.и слика 21.).

Табела 76. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности H_2O_2 у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

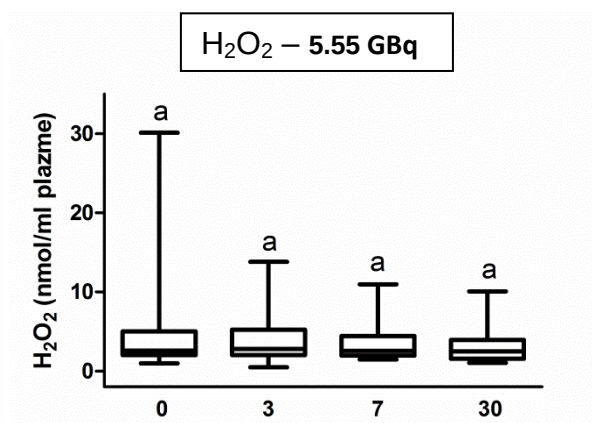
Интервали	z	p
$\text{H}_2\text{O}_2 0 - \text{H}_2\text{O}_2 3$	-1,000	0,317
$\text{H}_2\text{O}_2 0 - \text{H}_2\text{O}_2 7$	-0,956	0,339
$\text{H}_2\text{O}_2 0 - \text{H}_2\text{O}_2 30$	-1,617	0,105

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 76.и слика 22.).



Слика 21. Концентрација H_2O_2 у крви DTC пацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70GBq ^{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 22. Концентрација H_2O_2 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 77. Mann-Whitney Test разлика у ефекту доза од 3,70 и 5,55 GBq на ниво H₂O₂ 3., 7. и 30. дана након терапије

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

U - вредности H₂O₂; p – статистичка значајност

Тестирање разлика у ефектима доза од 3,70 GBq и 5,55 GBq ¹³¹I на ниво H₂O₂ у 3., 7. и 30. дану након терапије је показало да дозе различито утичу на промену концентрације H₂O₂ само у 7. дану од примене ¹³¹I (табела 77.).

АЗОТ ОКСИД (*NO)

Табела78 . Friedman Test вредности *NO за дозу од 3,70 GBq ¹³¹I

Време	Медиана(nmol/ml екстракта)	Средњи ранг
*NO 0	9,900	2,34
*NO 3	8,850	2,19
*NO7	10,690	2,87
*NO30	11,770	2, 60

Friedman Test $\chi^2=4,997$; 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 ¹³¹I приказани су у табели 78. Резултати Friedman Test –а испод табеле показују да ова доза не утиче статистички значајно на вредности *NO (p=0,172).

Табела 79. Friedman Test вредности $\bullet$ NO за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

Време	Медиана ($\eta\text{mol/ml}$ екстракта)	Средњи ранг
$\bullet$ NO 0	12,045	2,10
$\bullet$ NO 3	12,190	2,43
$\bullet$ NO 7	12,425	2,88
$\bullet$ NO 30	13,695	2,59

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

Вредности медиане и средњих рангова концентрације $\bullet$ NO у појединим временским тачкама (0, 3., 7. и 30. дан) након излагања дози од 5.55 GBq ^{131}I приказани су у табели 79. Резултати Friedman Test –а испод табеле показују да ова доза не утиче статистички значајно на вредности $\bullet$ NO ($p=0,090$).

Tabela 80. Wilcoxon Signed Ranks Test промене $\bullet$ NO по интервалима за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
$\bullet$ NO 0 – $\bullet$ NO 3	-0,646	0,517
$\bullet$ NO3 – $\bullet$ NO 7	-2,362	0,018
$\bullet$ NO7 – $\bullet$ NO30	-0,370	0,711

z–вредности $\bullet$ NO; p – статистичка значајност

У табели 80.и слици 23. се може уочити да вредности $\bullet$ NO 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 81. Wilcoxon Signed Ranks Test промене $\bullet$ NO по интервалима за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
$\bullet$ NO0 – $\bullet$ NO3	-0,822	0,411
$\bullet$ NO3 – $\bullet$ NO7	-0,504	0,614
$\bullet$ NO7 – $\bullet$ NO30	-0,649	0,515

z - вредност NO; p – статистичка значајност

Вредности $\bullet$ NO између суседних временских интервала након примене дозе од 5,55GBq ^{131}I нису статистички значајно промењене (табела 81.и слика 24.).

Табела 82. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности NO у односу на вредност пре терапије за дозу од 3,70 GBq ^{131}I

Интервали	z	p
$\bullet$ NO0 – $\bullet$ NO 3	-0,646	0,517
$\bullet$ NO0 – $\bullet$ NO7	-0,573	0,115
$\bullet$ NO0 – $\bullet$ NO30	-0,705	0,480

z - вредност $\bullet$ NO; p – статистичка значајност

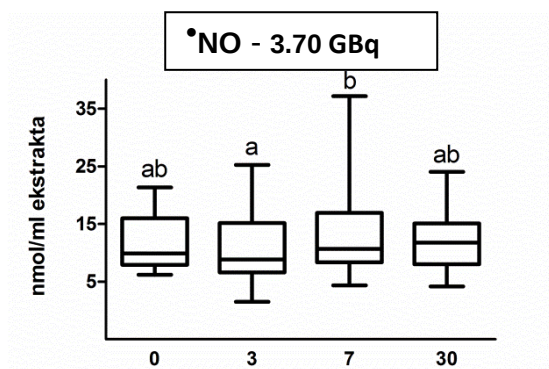
Вредности $\bullet$ NO након примене дозе од 3,70 GBq ^{131}I нису статистички значајно промењене у односу на вредност пре терапије (табела 82.и слика 23.)

Табела 83. и слика 24. Wilcoxon Signed Ranks Test промене вредности $\bullet$ NO у односу на вредност пре терапије за дозу од 5,55 GBq ^{131}I

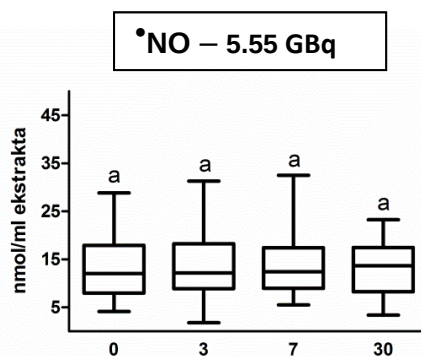
Интервали	z	p
$\bullet$ NO0 – $\bullet$ NO 3	-0,822	0,411
$\bullet$ NO0 – $\bullet$ NO7	-1,308	0,191
$\bullet$ NO0 – $\bullet$ NO30	-0,778	0,436

z–вредност $\bullet$ NO; p – статистичка значајност

Ниво $\bullet$ NO након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I није статистички значајно промењен у односу на вредност NO пре терапије (табела 83.и слика 24.).



Слика 23. Концентрација $\bullet$ NO у крви DТСпацијената, 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70GBq 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 24. Концентрација $\bullet$ NO у крви DТС 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).

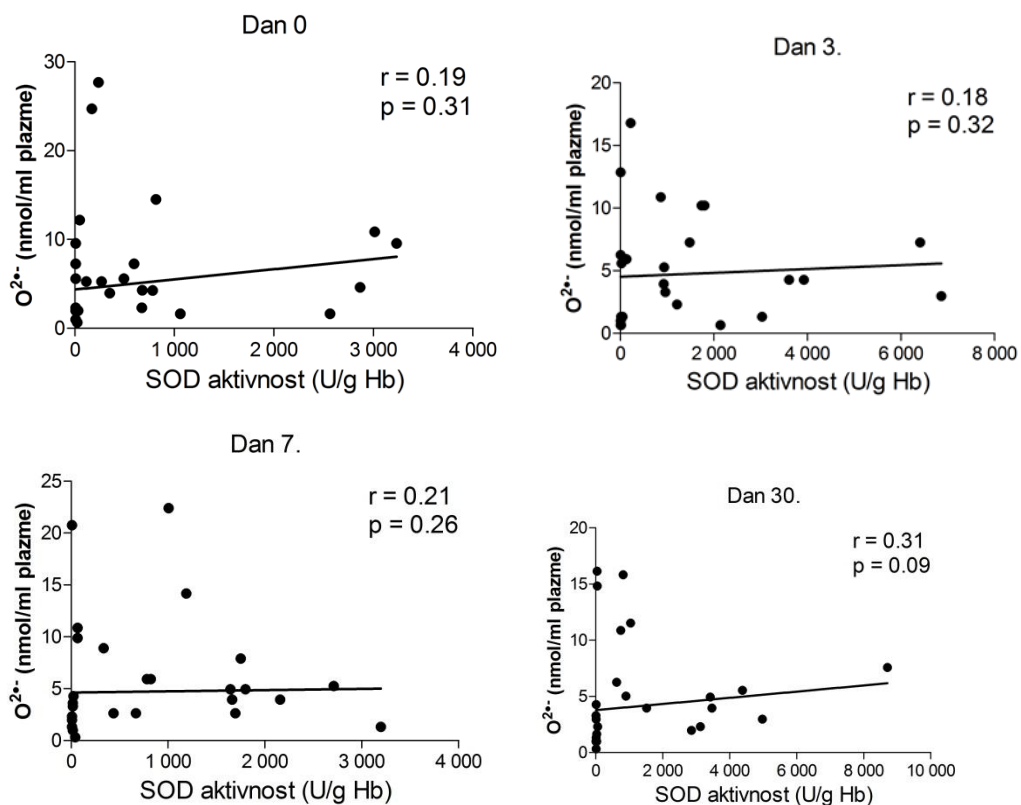
Табела 84. Mann-Whitney Test разлика у ефекту доза од 3,70 и 5,55 GBq на ниво •NO 3., 7. и 30. дана након терапије

Варијабла	Доза	Медијана	U	p
•NO3	3,70 GBq	8,850	370,5	0,040
	5,55GBq	12,190		
•NO7	3,70 GBq	10,690	452,0	0,327
	5,55 GBq	12,425		
•NO30	3,70 GBq	11,770	493,5	0,664
	5,55GBq	13,695		

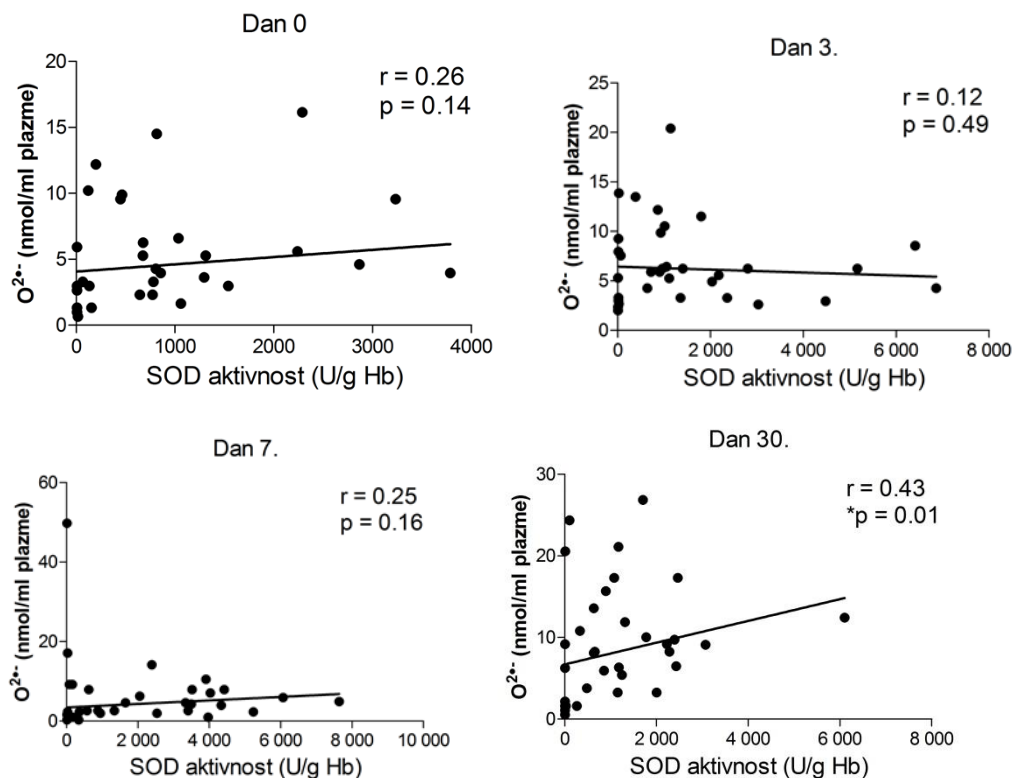
U–вредност •NO; p – статистичка значајност

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 84.).

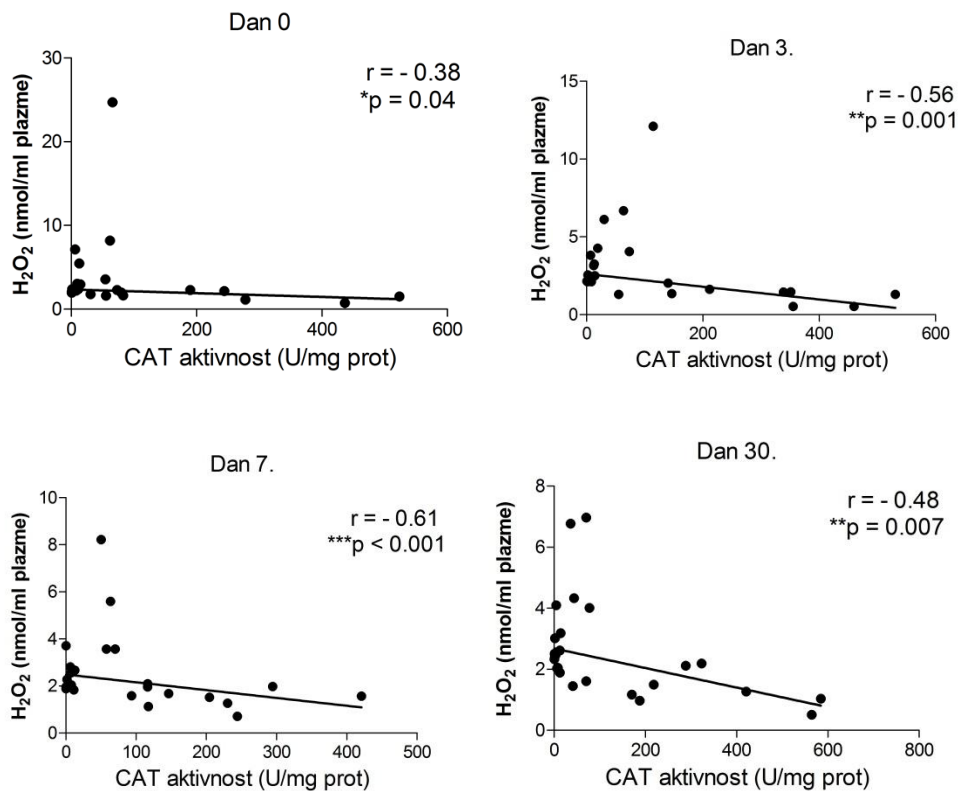
КОРЕЛАЦИЈА ЕНЗИМА И ЊИХОВИХ СУПСТРАТА



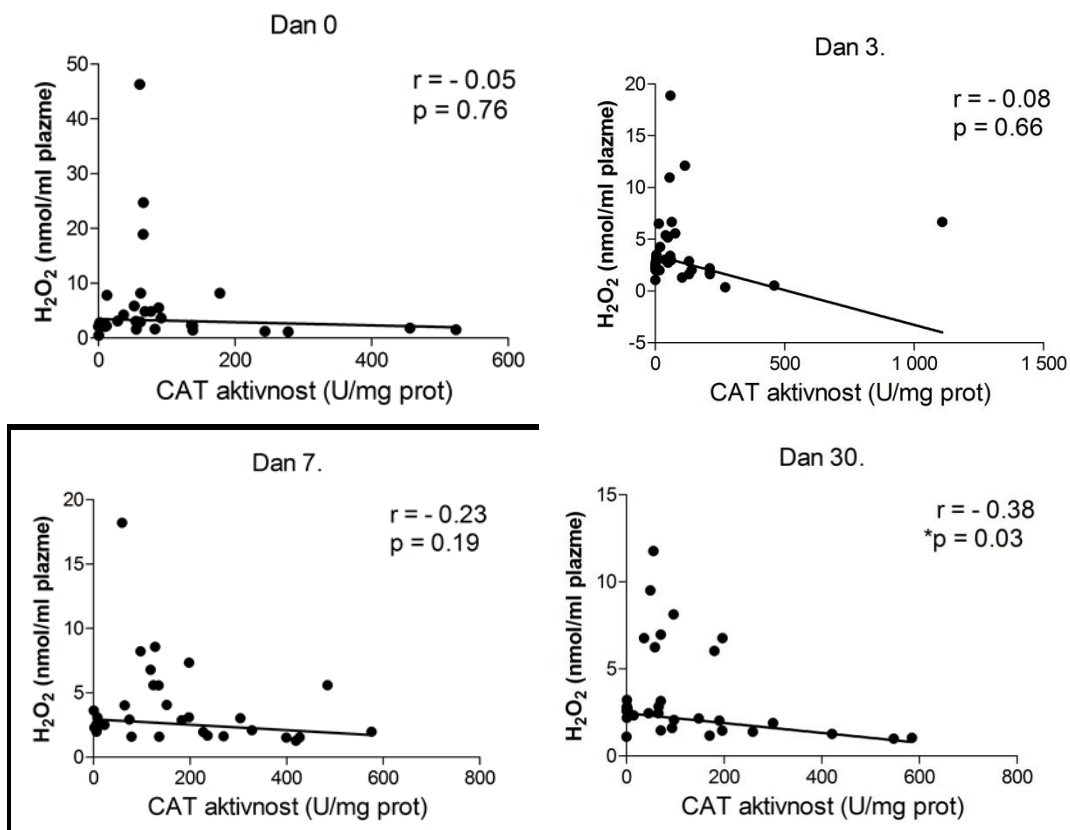
Слика 25. Спearманова корелација и линеарна регресија SOD активности и концентрације $O_2^{\bullet-}$ у крви DTC пацијената 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70GBq ^{131}I (r - Спearманов коефицијент; p - вредност за Спearманов коефицијент)



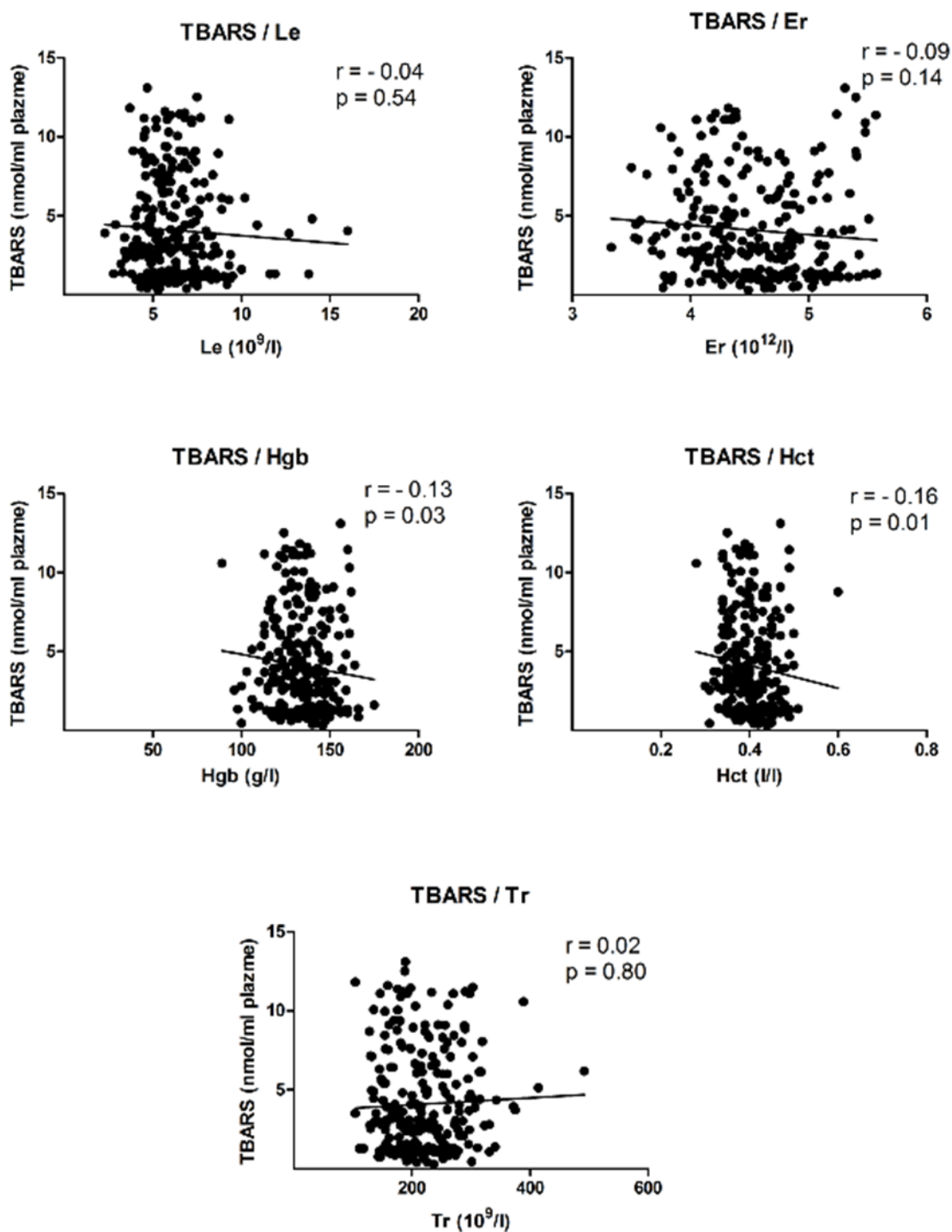
Слика 26. Спearманова корелација и линеарна регресија SOD активности и концентрације $O_2^{\bullet-}$ у крви DTC пацијента 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I (r - Спearманов коефицијент; p - вредност за Спearманов коефицијент).



Слика 27. Спearманова корелација и линеарна регресија CAT активности и концентрације H₂O₂ у крви DTC пацијената 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 3,70GBq ¹³¹I (r - Спearманов коефицијент; p - вредност за Спearманов коефицијент).



Слика 28. Спearманова корелација и линеарна регресија CAT активности и концентрације H_2O_2 у крви DTC пацијената 0, 3., 7. и 30. дана након примене дозе од 5,55 GBq ^{131}I (r –Спearманов коефицијент; p - вредност за Спearманов коефицијент).



Slika 29. Spearmanova korelacija i linearna regresija koncentracije TBARS-a i nivoa hematoloških parametara (Le, Er, Hgb, Hct, Tr) u krvi DTC pacijenata (r –Spearmanov koeficijent; p - p vrednost za Spearmanov koeficijent).

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 и 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 плувачних 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 реверзibilних 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). Умногобројним 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 ¹³¹I 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. Lloyd 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 О. и сарадници (198) јер су у периферној крви пацијената са DTC након терапије ¹³¹I 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 ¹³¹I.

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. Molinargo 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) и Namasivajm и сарадници (205) су забележили снижене вредности броја еритроцита код пацијената са папиларним карциномом у поређењу са вредностима код здравих испитаника. И ураније публикованим

радовима забележен је пад броја еритроцита и концентрација хемоглибина 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 ^{131}I . 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 санивоом TBARS-а је показала постојање негативне корелације TBARS/хематокрт и TBARS/хемоглобин, док остали параметри нису значајно корелисани са нивоом липидне пероксидације (Слика 29). 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 де ново 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).

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 смањио 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 rh TSH 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

результатима 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 реверзибилне депресије костне сржи али и различите индивидуалне осетљивости на зрачење.

ПАРАМЕТРИ АНТИОКСИДАТИВНОГ СТАТУСА

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 и 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 АОсу се 3. дана манифестовале кроз повећање активности SOD за обе примењене дозе, док се активност CAT и концентрација GSHу 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 $\text{O}_2^{\bullet-}$ 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- κ B, 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. Sabitha и сарадници (221) су у свом раду приметили да је вредност еритроцитне ензимске активности SOD, CAT и GPx знатно снижена после терапије ^{131}I . SOD има

улогу да $O_2^{\cdot-}$ конверзује у H_2O_2 и тиме између осталог онемогући реакцију $O_2^{\cdot-}$ са $\bullet NO$ и формирање пероксинитритних анјона ($ONOO\bullet$) који покрећу липидну пероксидацију. Резултати ове докторске студије показују да у крви пацијената са DTC нема статистички значајне промене вредности $\bullet NO_3$ дана од апликације ^{131}I за обе дозе у поређењу са вредностима добијених пре апликације ^{131}I . На основу овога може се закључити да наведени пут стварања $ONOO\bullet$ 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 Kumaraguruparan и сарадници (224) су показали да је у малигном ткиву дојке повећана вредност продуката липидне пероксидације као и ензимски антиоксиданси 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 и крви DTC пацијената првенствено последица ензимске активности каталазе. На Слици 27. 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 H_2O_2 само 30. дана након третмана радиоактивним јодом (Слика 28). Са друге стране, активност CAT је повећана само у седмом дану, уз истовремено непромењен ниво H_2O_2 . 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 стимулисана фосфорилацијом посредованом c-Abl/Arg тирозин

киназама. Међутим, у условима продуженог оксидативног стреса Abli 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 ^{131}I . 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 GR и Nadcarni GD (232) су показали да код пацова након примене аблационе дозе ^{131}I 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 Kopukoğlu и сарадници су (235) приметили да су код тиреоидектомисаних пацијената вредности GSH ниже у односу на вредности GSH код здравих испитаника, међутим два дана након терапије ^{131}I 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 $\bullet\text{NO}$ у свим испитиваним тачкама за обе дозе ^{131}I , није статистички значајно промењен у односу на вредност $\bullet\text{NO}$ пре примене терапије. У студији Baskol и сарадника (238) показано је да хипотироидни пацијенти имају повишене вредности $\bullet\text{NO}$ у односу на контролну групу здравих испитаника, односно, да хипотиреоидни пацијенти имају повећане вредности ROS-а који доводе до смањене активности антиоксидантних ензима а повећања вредности MDA и $\bullet\text{NO}$. Ми у нашем раду нисмо имали контролну групу здравих испитаника већ смо упоређивали вредности $\bullet\text{NO}$ пре и после терапије ^{131}I код хипотиреоидних пацијената. Вероватно је у нашој студији, код пацијената из групе 0. дан, вредност $\bullet\text{NO}$ 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 $\bullet\text{NO}$.

Вредности $\text{O}_2^{\bullet-}$ 3., 7. и 30. дана за дозу ^{131}I од 3.70 GBq нису статистички значајно промењене у односу на вредност $\text{O}_2^{\bullet-}$ пре примене аблационе дозе. Код пацијената којима је апликована доза ^{131}I од 5.55 GBq ниво $\text{O}_2^{\bullet-}$ показује статистички значајно повећање само 30. дана у односу на вредност $\text{O}_2^{\bullet-}$ 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 $\text{O}_2^{\bullet-}$ има највећу забележену вредност 30. дана након излагања дози од 5.55 GBq. Занимљиво је да је само у овој тачки концентрација $\text{O}_2^{\bullet-}$ позитивно корелисана са активношћу SOD, 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 $\text{O}_2^{\bullet-}$ се не мења ни у једној од испитиваних временских тачака, па је очекивано и одсуство корелације овог слободног радикала са активношћу SOD, 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 саDTC 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 терапију¹³¹Иод 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, Kopukoğlu 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 и 5.55GBq. Kumaraguruparan и сарадници (224) су показали да је у малигном ткиву дојке повећана вредност продукта 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 зрачња 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 (ПУФА) (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.
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. Дозом од 3,70 GBq ^{131}I доводи до значајног пораста вредности GSH 7. дана у односу на вредност пре терапије. Након терапије ^{131}I у дози 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.

4. У односу на вредности пре терапије дозе радиоактивног јода индукују значајне промене нивоа слободних радикала у крви DTC пацијената.
- Вредности $O_2^{\sim}$ 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 $O_2^{\sim}$ 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):pp. 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): pp. 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, (2002), Production routes of the alpha emitting 149-TbF for medical application, *Radiochim. Acta.* 2002;90: pp. 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 radioimmunotherapy, 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; pp. 16-27.

9. Tucker JD, Morgan WF, Awa AA, et al. (1995), A proposed system for scoring structural aberrations detected by chromosome painting, *Cytogenetic Cell Genetic*. 1995;68: pp. 211-221.
10. Joksić G, Ptrović-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): pp. 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. Thiols 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, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Oxford, Oxford University Press; 2007.
23. Halliwell B, Gutteridge JMC Free Radicals in Biology and Medicine, 4th ed. 2007; OxfordUniversity Press: Oxford, UK.
24. Bremer HJ, Duran M, Kamerling JP, Przyrembel H, Wadman SK. Glutathione; In: Disturbances of AminoAcid Metabolism: Clinical Chemistry and Diagnosis. (Bremer HJ, Duran M, Kamerling JP, Przyrembel H, Wadman SK eds.). Baltimore-Munich: Urban and Schwarzenberg, 1981; pp. 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 personalview. 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, Filesì 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 syntethase 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. Mc Cord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. Anezymic function for erythrocyte (hemocytin). 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, 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, Nystrom T. The Polarisome is required for sequestration 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; pp. 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; pp. 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 oxygen stress. Plant Physiol. Biochem. 2002;40:471-478.
74. Reinke LA, Lai EK, Dubose CM, McCay 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;84:922-927.
75. Jacques PF, Chylack LT, McGandy RB, Hartz SC. Antioxidant status in persons with and without senile cataract. Arch. Ophthalmol. 1988;106: 337-340.
76. Opara EC. Oxidative stress. In: Colonic Diseases, Koch TR (ed.). Totowa NJ: Humana Press, 2003; pp. 179-189.
77. Dryden GW Jr, Deaciuc I, Arteel G, McClain 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 (2002): Free radicals in the physiological control of cell function, *Physiol. Rev*. 82, 47-95.
 89. Petkau A. Protection and repair of irradiated membranes, In: *Free radicals, aging and degenerative diseases* (Liss AR, ed.), Ed Wiley-Liss Inc., New York, 1986; pp. 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 Biomedical, New York, 1983; pp. 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 thioredoxin system, *Free Rad Biol Med.* 2001;31:1287-1312.
98. Di Mascio P, Briviba K, Bechara EJ, Medeiros MH, Sies H . Reaction of peroxynitrite 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. $^{\bullet}OONO$: 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 žlijezdi, *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, Schlumberger MJ, Hay ID. Iodine and the synthesis and secretion of thyroid hormones, In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS. *Williams textbook of endocrinology*. 10th ed. Philadelphia: Saunders, 2003; pp.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; str. 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 Oct;31 (10):1443-1449.
114. Yeung MJ, Serpell JW. Management of the solitary thyroid nodule. *Oncologist.* 2008 Feb;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. Nikiforov YE, Gnepp DR. Pathomorphology of thyroid gland lesions associated with radiation exposure: the Chernobyl experience and review of the literature. *Adv. AnatPathol*. 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. *SurgClin 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; str. 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. Sipos 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.), Excerpta Medica 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 Sep;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; pp. 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, Lombroso 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 ¹³¹ 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. Sl. glasnik RS. 1/12144
 158. Welch PL, Mankoff DA. Cancer: taking up iodide in breast 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 ¹³¹I. *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-¹³¹I for scintigraphy or therapy does not preclude pregnancy in thyroid cancer patients. *Journal of Nuclear Medicine*. 1996;37:606-612.
 166. Glinier 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, Schvartz 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, Schriever 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*. 2005Mar;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 thyroglobulin levels. *Thyroid*, 1997Apr;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 measurment 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 [15 N] 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 blood count 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.: Postirradiation 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 JY1, Kwong M, Lo M, Emerson R, Kuypers FA. Reduced oxidative-stress response in red blood cells from p45NFE2-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. *ClinChem 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): p. 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): p. 1020-5.
228. Lardinois, O. M., Mestdagh, M. M., & Rouxhet, P. G. (1996). Reversible inhibition and irreversible inactivation of catalase in presence of hydrogen peroxide. *Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1295(2), 222-238.
229. Cao C1, 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 Sep 9;42(35):10348-53.
230. Deneke SM, Fanburg BL. Regulation of cellular glutathione. *Am J Physiol.* 1 989 Oct;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, Arikan 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 Jun;18(3):299–310)
238. Baskol G, Atmaca H, Tanriverdi 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 Mv1Lu 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, O. M. 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, M., Y. Yoshida, and E. Niki, 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. 2014, Academic Press: Boston. p. 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

