

## بررسی شدت آسیب‌های سلولی ناشی از تشعشع در بیماران مبتلا به سرطان دیفرانسیه‌ی تیروئید درمان شده با ید رادیواکتیو

دکتر عارف هومن، دکتر مهدی مقربی، دکتر نریمان مصفا، دکتر فرج تابعی، دکتر بابک شفیعی، دکتر عیسی  
نشاندار اصلی

تهران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، بیمارستان طالقانی، بخش پزشکی هسته‌ای، نشانی  
مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، بیمارستان طالقانی، دکتر عارف هومن e-mail: dr\_arefhooman@yahoo.com

### چکیده

مقدمه: با توجه به اینکه نارسایی‌هایی کروموزومی لنفوسیت‌ها به دنبال تشعشع می‌تواند خود را به صورت افزایش تعداد سلول‌های حاوی micro nuclei نمایان کند، در این مطالعه از روش ایمونولوژی (MNA (micro nuclei assay برای ارزیابی صدمه‌های سیتوتوکسیک تشعشع به سلول‌های لنفوسیت خون محیطی استفاده شده است. ید رادیواکتیو کاربردهای فراوانی اعم از تشخیص و درمان در پزشکی هسته‌ای دارد و از طرفی میزان اشعه‌ی تابیده شده و اثرهای بیولوژیک آن بسیار بالاتر از تابنده‌های گاما است. با توجه به تأثیر عوامل مختلفی همانند نوع تشعشع، دوز و نژاد در حساسیت به تشعشع و با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ی مشابهی در کشور ایران خارج از محیط آزمایشگاه و بالینی برای ارزیابی صدمه‌های سیتوتوکسیک تشعشع در بیماران مورد تجویز داروهای رادیواکتیو انجام نشده است بررسی مربوطه انجام شد. مواد و روش‌ها: تعداد ۲۲ بیمار مبتلا به کانسر تیروئیدی که تحت درمان با ۱۰۰ یا ۱۵۰ میلی‌کوری ید ۱۳۱ رادیواکتیو بودند، ارزیابی شدند. در این روش لنفوسیت‌های خون محیطی بعد از کشت توسط روش‌های ایمونولوژیک جدا سازی شدند و با مقایسه‌ی تعداد مایکرونوکلئ‌های لنفوسیت‌های خون محیطی قبل و یک هفته بعد از درمان با ید رادیواکتیو آسیب‌های کروموزومی به طور غیرمستقیم ارزیابی شدند. یافته‌ها: متوسط تعداد مایکرونوکلئ‌ها در ۱۰۰ لنفوسیت دو هسته‌ای در کل افراد مورد مطالعه قبل از درمان با ید رادیواکتیو  $2/2 \pm 6/3$  عدد و یک هفته بعد از درمان  $3/1 \pm 9/6$  بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار است ( $p < 0/05$ ). نتیجه‌گیری: دوزهای بالای ید ۱۳۱ رادیواکتیو که برای درمان بعد از جراحی بدخیمی‌های تیروئیدی به کار می‌رود می‌تواند منجر به ایجاد شکستگی‌های کروموزومی می‌شود و میزان سلول‌های لنفوسیت حاوی مایکرونوکلئ‌ها را به عنوان یک مارکر غیرمستقیم نارسایی‌های کروموزومی افزایش می‌دهد که می‌تواند زمینه‌ای برای ایجاد ترانسلوکاسیون‌های بعدی باشند. متوسط افزایش در تعداد لنفوسیت‌های حاوی مایکرونوکلئ‌ها بعد از درمان به نسبت قبل در مطالعه‌ی ما به نسبت چند مطالعه‌ی معدود و مشابه دیگر متفاوت بود که می‌تواند بیانگر تأثیر عوامل مداخله‌گر دیگری اعم از نژاد در میزان حساسیت به تشعشع در افراد مختلف باشد.

واژگان کلیدی: میکرونوکلئ، کانسر تیروئید، ید درمانی، لنفوسیت، تشعشع، نارسایی کروموزومی، آسیب سلولی

دریافت مقاله: ۸۶/۲/۲۴ - دریافت اصلاحیه: ۸۶/۴/۱۲ - پذیرش مقاله: ۸۶/۴/۱۹

### مقدمه

رادیواکتیو ۱۳۱ یکی از مواد رادیو اکتیوی است که در طب هسته‌ای کاربردهای فراوانی اعم از تشخیصی و درمان دارد به طوری که دوز ید ۱۳۱ به کار رفته برای موارد تشخیصی در حد ۵ میلی‌کوری است ولی دوزهای به کار رفته برای

در کاربردهای پزشکی اشعه‌ی یونیزان از قبیل رادیولوژی، پزشکی هسته‌ای و سی‌تی‌اسکن، علاوه بر حصول منفعت که همان تشخیص و درمان بیماری‌ها است، خطر ناشی از پرتوگیری نیز باید مورد توجه قرار گیرد. ید

موارد درمانی بسیار بالاتر و در حد ۲۰ تا ۲۵۰ میلی‌کوری و حتی بالاتر است.<sup>۱</sup> این ماده برای درمان کانسره‌های تیروئید با دوزهای بالای ۱۰۰ میلی‌کوری و در درمان پرکاری‌های تیروئید با دوزهای کمتری کاربرد دارد. یکی از تفاوت‌های عمده‌ی ید رادیواکتیو ۱۳۱ با بقیه‌ی رادیو داروهایی که در طب هسته‌ای به کار می‌روند نوع اشعه‌ی تابیده شده است که از نوع بتا است اثرهای بیولوژیک بسیار بیشتری نسبت به تابنده‌های گاما دارد.<sup>۱</sup> یکی از مواردی که بیانگر اثرهای بیولوژیک اشعه‌ی بتا است، میزان ناهنجاری‌ها و شکستگی‌های کروموزومی است که با روش‌های متفاوتی در افرادی که تحت بررسی‌های تشخیصی یا درمانی با ید رادیواکتیو قرار گرفته‌اند قابل اندازه‌گیری است.<sup>۱</sup> با توجه به تعداد زیاد بیماران که سالانه در کشور ما با تجویز ید رادیواکتیو روبرو می‌شوند و با توجه به این‌که تاکنون مطالعه‌ای در کشور ما برای بررسی اثرهای بیولوژیک مواد رادیواکتیو تجویزی به صورت بالینی انجام نشده است و تأثیر عوامل مختلفی مانند نژاد در حساسیت به تشعشع انجام مطالعه‌ی حاضر لازم و ضروری به نظر می‌رسید. یکی از شاخص‌های اثرهای زیان‌بار زیستی کاربرد پزشکی پرتوهای یون‌ساز از جمله مواد پرتوزا، ایجاد ناهنجاری‌های ساختمانی و عددی کروموزومی در بیماران است. میزان ناهنجاری‌های ساختمانی کروموزومی ایجاد شده در اثر کاربرد مواد پرتوزا با روش‌های مختلفی مثل میکرونوکلئ و FISH سنجیده می‌شود.<sup>۱</sup> برآورد میزان ناهنجاری‌های ساختمانی کروموزومی ایجاد شده در اثر اشعه‌ی یونیزه به عنوان یک روش استاندارد برای تعیین حساسیت پرتوی به کار رفته است.<sup>۱</sup>

تاکنون مطالعه‌های دوزیمتری زیادی برای تخمین میزان تشعشع به استخوان یا مغز استخوان بعد از درمان ید رادیواکتیو انجام شده است<sup>۲</sup> اما گزارش‌های کمی در ارتباط با آسیب‌های کروموزومی ناشی از درمان با ید رادیواکتیو منتشر شده است.<sup>۳،۴</sup>

در یک مطالعه‌ی انجام شده، آسیب‌های سیتولوژیک ناشی از تشعشع ید ۱۳۱ توسط روش سیتولوژی MNA ارزیابی شد<sup>۵</sup> میکرونوکلئ‌ها اجسام کروی داخل سیتوپلاسمی هستند که محتوی قسمتی یا تمامی از یک کروموزوم می‌باشند. آن‌ها طی تقسیم سلولی در اثر شکستگی کروموزومی یا جدا شدن یک کروموزوم از رشته‌های دوک پدید می‌آیند.<sup>۵</sup> با شمارش تعداد سلول‌های لنفوسیتی حاوی

میکرونوکلئ‌ها نشان داده شده است که آسیب افراد در اثر تشعشع متفاوت است ولی مطالعه‌ی کاملی برای ارزیابی دوزهای بالای ید ۱۳۱ انجام نشده. و رآل و همکاران این نکته را مطرح کردند که ارزیابی لنفوسیت‌های خون محیطی توسط MNA ممکن است برای ارزیابی آسیب‌های سیتوتوکسیک تشعشع مفید باشد.<sup>۶</sup> این ارزیابی برای بررسی تفاوت در پاسخ به تشعشع در افراد مختلف به کار رفته است. اثر بیولوژیک تشعشع لنفوسیت‌ها و سلول‌های خون محیطی از زمان تزریق آغاز می‌شود ولی مطالعه‌های قبلی انجام شده توسط واتانوبا و همکاران حاکی از آن است که زمان حداقل یک هفته بعد از تجویز ید ۱۳۱ رادیو اکتیو زمان مناسبی برای ارزیابی صدمه‌های سلولی ایجاد شده ثانویه به تشعشع است.<sup>۵</sup>

با توجه به اینکه لنفوسیت‌های خون محیطی به نسبت بقیه‌ی زیر گروه‌های سلول‌های خونی حساسیت بیشتری به تشعشع دارند<sup>۷،۸</sup> و از طرفی صدمه‌های کروموزومی لنفوسیت‌ها در اثر تشعشع می‌تواند تعداد سلول‌های حاوی میکرونوکلئ را بیشتر کند<sup>۹</sup> در این مطالعه از روش MNA برای ارزیابی آسیب سیتولوژیک به سلول‌های لنفوسیت محیطی بعد از درمان با ید ۱۳۱ رادیواکتیو استفاده شد.

## مواد و روش‌ها

از خرداد تا آبان سال ۱۳۸۵، ۲۲ بیمار مبتلا به کانسر تیروئید که برای ید درمانی به منظور تخریب بافت باقیمانده‌ی تیروئید یا متاستاز احتمالی به بخش پزشکی هسته‌ای بیمارستان طالقانی ارجاع شده بودند ارزیابی شدند (۵ مرد و ۱۷ زن با محدوده‌ی سن ۱۸ تا ۷۶ سال با متوسط سنی ۴۴/۴ سال). در تمام بیماران بدخیمی تیروئید با بیوپسی تأیید شده بود و تمام بیماران قبل از بستری عمل توتال تیروئیدکتومی شده بودند و از طرفی TSH همه‌ی بیماران قبل از تجویز ید بالای ۳۰ UI/ML بوده است. برای ۸ بیمار ۱۰۰ میلی‌کوری ید ۱۳۱ و برای ۱۴ بیمار ۱۵۰ میلی‌کوری ید ۱۳۱ تجویز شد. نمونه‌ی خون قبل و ۷ روز بعد از تجویز ید ۱۳۱ از بیماران تهیه، در ویال‌های حاوی هپارین (۵۰ واحد، به ازای هر سی‌سی خون) به سرعت به آزمایشگاه و مراحل زیر به ترتیب اجرا شد:

۱- جدا سازی و تخلیص تک هسته‌ای‌های خون محیطی:

- ۱- چروکیده شدن سلول در حجم پلاسمایی و غشا
  - ۲- فشردگی و قطعه قطعه شدن هسته‌ی سلول.
  - ۳- تبدیل غشای پلاسمایی و محتوای آن به جوانه‌ها و وزیکول‌های متعدد که در حال جدا شدن از جسم اصلی سلول هستند.
  - ۴- عدم خروج و رهایی مواد داخل سلول به فضای خارج سلول
- اطلاعات به دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS و با آزمون تی جفتی بر حسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار آنالیز آماری شدند و  $p$  کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار تلقی شد.

### یافته‌ها

متوسط تعداد میکرونوکلی‌ها در ۱۰۰ لنفوسیت دو هسته‌ای در کل افراد مورد مطالعه قبل از درمان با ید رادیواکتیو  $۶/۳ \pm ۲/۲$  عدد و یک هفته بعد از درمان  $۹/۶ \pm ۳/۱$  بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار است ( $P < ۰/۰۵$ ). در ۸ بیمار که ۱۰۰ میلی‌کوری ید رادیواکتیو گرفته بودند، تعداد متوسط میکرونوکلی‌ها در ۱۰۰ لنفوسیت دو هسته‌ای قبل از درمان  $۶/۵ \pm ۲/۵$  بود که بعد از درمان به  $۹/۸ \pm ۳/۴$  عدد افزایش یافت. در ۱۴ بیمار دیگر که ۱۵۰ میلی‌کوری ید گرفته بودند، تعداد متوسط میکرونوکلی‌ها قبل و بعد از درمان به ترتیب  $۶/۰ \pm ۱/۵$  و  $۹/۲ \pm ۲/۷$  بود که در هر دو گروه بیماران این تفاوت‌ها از نظر آماری معنی‌دار بودند ( $P < ۰/۰۵$ ) (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه‌ی متوسط تعداد سلول‌های حاوی میکرونوکلی در ۱۰۰ لنفوسیت دو هسته‌ای قبل و بعد از درمان با ید رادیواکتیو ۱۳۱

قبل از درمان	بعد از درمان
گروه ۱ (۱۰۰ میلی‌کوری)	$۶/۵ \pm ۲/۵$
گروه ۲ (۱۵۰ میلی‌کوری)	$۹/۲ \pm ۲/۷$
مجموع کل بیماران	$۶/۳ \pm ۲/۲$

متوسط درصد افزایش در میزان میکرونوکلی‌ها قبل و بعد از درمان در دو گروهی که با ۱۰۰ یا ۱۵۰ میلی‌کوری ید گرفته

انجام این مرحله به کمک یک گرادیان غلظتی که همان فایکول هپاک است انجام شد به این صورت که ابتدا خون بیمار با هم حجم خود از محلول هنکس یا RPMI رقیق سپس به آرامی بر روی فایکول که قبلاً در لوله‌های مخصوص سانتریفوژ تقسیم شده بود به کمک پیپت پاستور منتقل شد. لوله‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با دور  $۴۰۰\text{g}$  سانتریفوژ شد<sup>۱</sup>

۲- انجام آزمون ترانسفورماسیون لنفوبلاستیک:

پس از انجام عمل سانتریفوژ، منطقه‌ی مربوط به تجمع تک هسته‌ای‌ها که بین لایه‌ی فایکول و پلاسمای نمونه است با عمل ساکشن توسط پیپت پاستور استریل و با رعایت همه‌ی شرایط لازم برای کشت سلول.

جمع‌آوری و به لوله شستشو منتقل گردید. با عمل شستشو در ۱۵ میلی‌لیتر هنکس و یا RPMI، سلول‌ها آماده کشت شدند سپس مجدداً سلول‌ها در یک میلی‌لیتر محیط کامل کشت سلول، resuspend شدند. به کمک لام نئوبار، شمارش سلول‌ها انجام و با رنگ حیاتی ترین‌بلو از نظر viability ارزیابی شدند. در اینجا به ازای هر یک میلیون سلول لنفوسیت در یک میلی‌لیتر محیط کشت کامل ۲۰ لانداز محلول PHA استفاده شد و همراه با ماده سیتوکلاسن‌بی (با غلظت ۶ میکروگرم در هر میلی‌لیتر) به سلول‌ها اضافه و مجموعه به دستگاه  $\text{CO}_2$  ۵٪ انکوباتور وارد و برای ۴۸ ساعت انکوبه شد.

۳- مطالعه‌ی وضعیت سلول‌های کشت شده از نظر وقوع MN و سایر اندکس‌های سلولی:

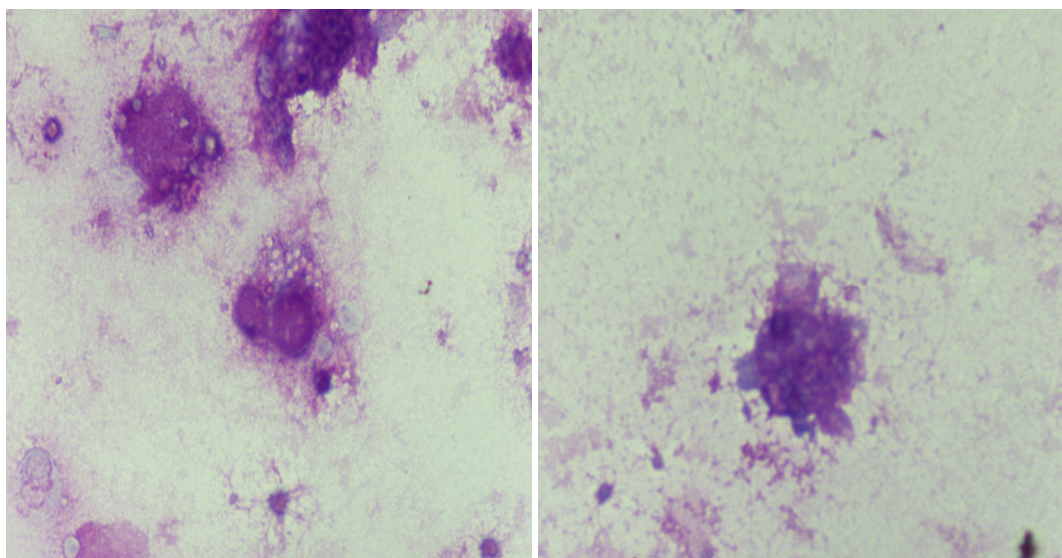
پس از خاتمه‌ی انکوباسیون، لوله‌های کشت سلول خارج و به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ شدند. با خارج ساختن ته‌نشین سلولی روی یک لام، ابتدا وضعیت سلول‌ها از نظر تکثیر و viability مورد بررسی قرار گرفتند. با باقیمانده‌ی ته‌نشین سلولی یک گسترش نیمه ضخیم از سلول‌ها تهیه شد که با متانول فیکس و با روش گیمسا رنگ‌آمیزی شد. به محض خشک شدن لام‌ها در جعبه مخصوصی قرار داد شدند تا بررسی‌های سلولی روی آنها انجام شود.

۴- مشاهده‌ی میکروسکوپی نمونه‌ها:

به کمک میکروسکوپ نوری و روش ایمرسیون، لام‌ها از نظر سیتولوژی بررسی شدند. درصد سلول‌های دو هسته‌ای، دو هسته‌ای حاوی میکرونوکلی و تعداد لنفوسیت‌های دو هسته‌ای محتوی میکرونوکلی تعیین شد (شکل ۱). همین کار در مورد سلول‌های آپوپتوتیک تکرار شد. سلول‌های آپوپتوتیک بر اساس چهار علامت زیر شناسایی می‌شوند<sup>۱۱</sup>

سلول‌های viable بعد از کشت سلولی و قبل از درمان با ید رادیواکتیو برابر  $4/4 \pm 90/7\%$  درصد و بعد از درمان به طور متوسط  $4/4 \pm 89/2\%$  بود

بودند به ترتیب  $7/50\%$  و  $3/53\%$  بود. شمارش لنفوسیت‌های خون محیطی و متوسط تعداد سلول‌های آپوپتوتیک قبل و بعد از درمان تفاوت معنی‌داری از نظر آماری با یکدیگر ( $2/2 \pm 15/5$ ) نداشتند. در بررسی (viability سلول‌ها متوسط تعداد  $1/8 \pm 15/7$ )



شکل ۱- مشاهده‌ی لنفوسیت‌های دو هسته‌ای حاوی اجسام میکرونوکلئی به دنبال تشعشع

بین مقدار اشعه‌ی تابیده شده به سلول‌های خونی و کروموزوم‌های ترانس‌لوکاسیون‌دار یافت شد.<sup>۱۳</sup> در یک مطالعه‌ی دیگر میزان ناهنجاری‌های کروموزومی لنفوسیت‌های خونی که تشعشع با اشعه ایکس گرفته بودند، بررسی شد که یک رابطه‌ی خطی درجه‌ی دو بین دوز اشعه‌ی تابیده شده و میزان ناهنجاری‌های کروموزومی یافت شد که از مقدار مرتبط با نوترن‌های fision کمتر بود.<sup>۱۴</sup> در یک بررسی با روش FISH ناهنجاری‌های کروموزومی ناشی از اشعه‌ی گاما (۶۰ کیالت) ارزیابی شد که با افزایش دوز میزان اختلال‌های ساختاری کروموزومی بیشتر دیده شد.<sup>۱۵</sup> اشعه‌ی یونیزه می‌تواند به صورت مستقیم یا غیرمستقیم به DNA آسیب وارد کند و باعث ناهنجاری ساختاری کروموزوم<sup>۱</sup> گردد.

برای ایجاد ناهنجاری ساختاری کروموزوم باید یک یا چند شکستگی دو زنجیره‌ای در DNA رخ دهد.<sup>۱۶</sup> DNA آسیب دیده طی مراحل تقسیم سلول می‌تواند با قطعه‌ای از کروموزومی دیگر مبادله شود (ترانس‌لوکاسیون) یا با اتصال

## بحث

تاکنون مطالعه‌های معدودی در مورد رابطه‌ی رادیو داروهای مورد استفاده در پزشکی هسته‌ای با اثرهای بالقوه بیولوژیکی حاصل از آن‌ها بر روی کروموزوم‌ها انجام شده است. در مطالعه‌ای که روی افراد مبتلا به کانسر تیروئید و تیروتوکسیکوز انجام شد، شکستگی‌ها و ناهنجاری‌های کروموزومی افراد مورد درمان با ید رادیواکتیو  $1734-2600$  مگا بکرل (معادل  $46-70$  میلی‌کوری) و تشعشع خارجی بر روی لنفوسیت‌های خونی مقایسه شدند. به طوری‌که ناهنجاری‌های کروموزومی در افراد مورد درمان با تشعشع خارجی در مقایسه با افراد ید درمانی شده بیشتر بود و از طرفی افراد مبتلا به تیروتوکسیکوز درمان شده با  $185-595$  مگا بکرل (معادل  $5-16$  میلی‌کوری) ید نسبت به افراد مبتلا به کانسر تیروئید درمان شده، شکستگی‌های کروموزومی بیشتری داشتند.<sup>۱۲</sup> در بررسی دیگری رابطه‌ی بین ناهنجاری‌های کروموزومی با ذره‌های تابنده‌ی آلفا (پلوتونیوم) به روش FISH ارزیابی شد که رابطه‌ی مستقیمی

i- Chromosomal aberration

نابه‌جا یا جدا شدن قطعه‌ای از کروموزم، سایر اشکال ناهنجاری ساختاری کروموزم مانند کروموزم دارای دو سانترومر، بدون سانترومر، حلقوی و غیره را تشکیل دهد. از بین ناهنجاری‌های کروموزمی ذکر شده به جز ترانسلوکاسیون، بقیه، ناهنجاری کروموزمی غیرپایدار نامیده می‌شوند زیرا سلول حاوی این شکل کروموزم اغلب بر اثر فعال شدن مسیر P53 به سمت آپوپتوز (مرگ سلول) می‌رود حال آن‌که ترانسلوکاسیون متعادل ممکن است با حیات سلول منافات نداشته باشد.<sup>۱۷</sup>

در این مطالعه از روش MNA برای ارزیابی آسیب‌های سیتوتوکسیک تشعشع به سلول‌های لنفوسیت خون محیطی استفاده شد و بیماران مبتلا به کانسر دیفرانسیه‌ی تیروئید بعد از درمان با ۱۰۰ و یا ۱۵۰ میلی‌کوری ید رادیو اکتیو ارزیابی شدند. مطالعه‌های قبلی انجام شده، حاکی از این است که میزان فراوانی میکرونوکلئول‌ها در هسته‌های لنفوسیت‌هایی که در معرض تشعشع ید رادیو اکتیو ۱۳۱ قرار گرفته‌اند از گروه شاهد قبل از درمان بیشتر بوده است.<sup>۱۸</sup> ووتک و همکاران در یک مطالعه این نکته رسیدند که لنفوسیت‌های خون محیطی به نسبت سایر سلول‌های خونی حساسیت بالاتری به اشعه‌های یونیزه و یا رادیو اکتیو دارند.<sup>۱۹</sup> وال و همکاران نیز به این نکته اشاره کرده‌اند که حساسیت بالای لنفوسیت‌های خون محیطی به اشعه‌ی رادیو اکتیو توسط آنالیز هسته‌های حاوی میکرونوکلئول می‌تواند ارزیابی قرار گیرد.<sup>۸</sup> در بررسی‌هایی که روی سلول‌های ایمنی از نظر آپوپتوزیس انجام شد مشخص شد که سلول‌های لنفوسیت خون محیطی نسبت به دیگر زیر گروه‌های خونی حساسیت خیلی بیشتری به تشعشع دارند.<sup>۲۰،۲۱</sup> ولی این میزان حساسیت به تشعشع لنفوسیتی، در تشعشع داخلی توسط مواد رادیو اکتیو درمانی یا تشخیصی کمتر مورد ارزیابی قرار گرفته است. در ید درمانی بیماران مبتلا به اختلال‌های تیروئید، میزان دوز تشعشع در افراد مختلف متفاوت است و این میزان تشعشع به طور متوسط در بیماران ید درمانی شده‌ی تیروئیدی معادل ۰/۳۲ گری است.<sup>۲۲</sup>

واتانوب در مطالعه‌ی خود هر سه گروه لنفوسیت‌های NK، T و B را توسط PHA تحریک کرد و به این نتیجه رسید که این تحریک invitro در سلول‌های B لنفوسیت بیشترین اثر را دارد و از طرفی میزان آسیب سلولی در

تشعشع داخلی (توسط مواد رادیو اکتیو درمانی یا تشخیصی) در دوزهای برابر قابل مقایسه با تشعشع خارجی<sup>۲۳</sup> می‌باشد. یافته‌های بالا مؤید این مطلب است که ارزیابی میکرونوکلئول هسته‌های سلول‌های لنفوسیت برای تخمین شدت آسیب تشعشع حساسیت بالایی دارد و شدت آسیب‌های کروموزومی در سلول‌های لنفوسیتی نسبت بقیه‌ی سلول‌های خون محیطی بیشتر است. بنا بر این ارزیابی آسیب سلولی توسط روش MN در سلول‌های لنفوسیت ارزشمندتر از بقیه‌ی سلول‌های محیطی است و این روش به عنوان یک روش حساس برای بررسی و برآورد آسیب‌های سلولی تشعشع مفید است.

در مطالعه‌ی حاضر در بیماران مورد مطالعه تعداد سلول‌های دو هسته‌ای که حاوی میکرونوکلئول بودند بعد از ید درمانی با ۱۰۰ و یا ۱۵۰ میلی‌کوری ید ۱۳۱ نسبت به قبل از درمان افزایش معنی‌داری داشت که به طور غیرمستقیم بیانگر ایجاد نارسایی‌های کروموزومی در اثر تشعشع داخلی ناشی از ید رادیو اکتیو ۱۳۱ است.

در مطالعه‌ای که توسط گاتیرز و همکاران انجام شده، تعداد سلول‌های لنفوسیت حاوی میکرونوکلئول در ۵۴ بیمار مبتلا به کانسر تیروئید که ید ۱۳۱ رادیو اکتیو گرفته بودند، یک هفته بعد از درمان ارزیابی شد. یافته‌ها حاکی از دو برابر شدن تعداد سلول‌های حاوی میکرونوکلئول نسبت به قبل از درمان بود که در مقایسه با یافته‌های مطالعه‌ی ما ۲/۴ برابر افزایش داشت.<sup>۲۳</sup>

در مطالعه‌ی مشابهی که توسط واتانوب و همکاران روی ۲۵ فرد ید درمانی شده‌ی مبتلا به بدخیمی تیروئید در ژاپن انجام شد.<sup>۲۴</sup> متوسط افزایش در تعداد لنفوسیت‌های حاوی میکرونوکلئول بعد از درمان نسبت به قبل از درمان در مطالعه‌ی مذکور به نسبت به مطالعه‌ی ما ۳/۶ برابر است که می‌تواند بیانگر تأثیر عوامل مداخله‌گر دیگری اعم از نژاد در میزان حساسیت به تشعشع در افراد مختلف باشد. متوسط درصد افزایش در میزان میکرونوکلئول‌ها قبل و بعد از درمان در دو گروهی که تحت درمان با ۱۰۰ یا ۱۵۰ میلی‌کوری ید قرار داشتند، به ترتیب ۵۰/۷٪ و ۵۳/۳٪ بود که این مقدار افزایش جزئی در درصد میکرونوکلئول‌ها با توجه به افزایش ۵۰ درصدی در دوز ید رادیو اکتیو تجویزی نشان‌دهنده‌ی عدم وجود یک رابطه‌ی مستقیم خطی بین افزایش تعداد

رادیوتوکسیسیته ناشی از درمان است مطالعه‌های بیشتری روی بیماران مبتلا به کانسره‌های تیروئید لازم است و بررسی میزان بروز ترانس لوکاسیون‌های کروموزومی توسط روش‌های دقیق ژنتیکی و ملکولی مانند FISH توصیه می‌گردد تا مکملی بر اطلاعات به دست آمده از روش میکرونوکلئتی به عنوان یک مارکر از آسیب‌های سیتولوژی ناشی از تشعشع باشد.

به نظر می‌رسد ید درمانی در بیماران مبتلا به کانسر تیروئید تعداد سلول‌های لنفوسیت حاوی میکرونوکلئتی را به عنوان یک مارکر غیرمستقیم از شکستگی‌های کروموزومی افزایش می‌دهد.

میکرونوکلئتی‌ها با میزان دوز ید رادیواکتیو تجویزی است. توجه به این نکته است که اغلب سلول‌هایی که در آن‌ها سلول‌های دو هسته‌ای حاوی میکرونوکلئتی ایجاد شده یا به عبارتی حاوی شکستگی‌های کروموزومی هستند، به مرور زمان دچار آپوپتوز و مرگ سلولی می‌شوند ولی در این بین درصدی از آن‌ها ممکن است دچار ترانس‌لوکاسیون‌های پایدار کروموزومی شوند که این موارد می‌تواند زمینه ایجاد بدخیمی‌های ثانویه را در آینده فراهم کند. یافته‌های این بررسی حاکی از امکان وقوع ناهنجاری‌های کروموزومی است که در مطالعه به صورت وقوع میکرونوکلئتی نشان داده شده است. هر چند این یافته‌ها خود مؤید وقوع

## References

- Li LB, Wang JP, Yu XR, He SS, Yu FH, Ding CH. Medical radiation usage and exposures from medical X ray diagnosis in Shandong province of China. *Radiat Prot Dosimetry* 2001; 93: 261-6.
- Maxon HR 3rd, Smith HS. Radioiodine-131 in the diagnosis and treatment of metastatic well differentiated thyroid cancer. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990; 19: 685-718.
- Baugnet-Mahieu L, Lemaire M, Leonard ED, Leonard A, Gerber GB. Chromosome Aberrations after Treatment with Radioactive Iodine for Thyroid Cancer. *Radiat Res* 1994; 40: 429-31.
- M'Kacher R, Legal JD, Schlumberger M, Voisin P, Aubert B, Gaillard N, et al. Biological dosimetry in patients treated with iodine-131 for differentiated thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 1996; 37: 1860-4.
- Watanabe N, Yokoyama K, Kinuya S, Shuke N, Shimizu M, Futatsuya R, et al. Radiotoxicity after iodine-131 therapy for thyroid cancer using the micronucleus assay. *J Nucl Med* 1998; 39: 436-40.
- Anderson RE, Sprent J, Miller JF. Radiosensitivity of T and B lymphocytes. I. Effect of irradiation on cell migration. *Eur J Immunol* 1974; 4: 199-203.
- Schwartz JL, Darr JC, Gaulden ME. Survival and PHA-stimulation of gamma-irradiated human peripheral blood T lymphocyte subpopulations. *Mutat Res* 1983; 107: 413-25.
- Vral A, Louagie H, Thierens H, Philippé J, Cornelissen M, de Ridder L. Micronucleus frequencies in cytokinesis-blocked human B lymphocytes after low dose gamma-irradiation. *Int J Radiat Biol* 1998; 73: 549-55.
- Fenech M, Morley AA. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat Res* 1985; 147: 29-36.
- Fernandez- Botran R, editor. *Methods in cellular immunology*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press 2001. p. 60-5.
- Paul WE. *Fundamental immunology*. 4th ed. Philadelphia: Lippinton Raven publisher 1999. p. 813-4.
- Pilinskaia MA, Dybskiĭ SS. Frequency of stable chromosomal aberrations determined by FISH in 49 Chernobyl nuclear accident liquidators exposed to various doses of radiation. *Tsitol Genet* 2001; 35: 50-4.
- Ftáčniková S, Ragan P. Radiation dose to the population of Slovak Republic from diagnostic nuclear medicine. *Health Phys* 1995; 69: 16-20.
- Reiners C, Sonnenschein W. Radiation exposure from diagnostic nuclear medicine in Germany 1992 (the former Federal Republic). *Nuklearmedizin* 1994; 33: 254-62.
- Papadopoulos G, Okkalides D. Dose to patients through nuclear medicine procedures in a department in northern Greece. *Eur J Nucl Med* 1990; 17: 212-5.
- Kirsch-Volders M, Vanhauwaert A, Eichenlaub-Ritter U, Decordier I. Indirect mechanisms of genotoxicity. *Toxicol Lett* 2003; 140-141: 63-74.
- Schwartz JL, Jordan R. Selective elimination of human lymphoid cells with unstable chromosome aberrations by p53-dependent apoptosis. *Carcinogenesis* 1997; 18: 201-5.
- Högstedt B, Karlsson A, Bratt I, Holmén A. Micronucleus induction in human B and T lymphocytes separated by an immunomagnetic technique. *Hereditas* 1993; 119: 99-103.
- Wuttke K, Streffer C, Müller WU. Radiation induced micronuclei in subpopulations of human lymphocytes. *Mutat Res* 1993; 286: 181-8.
- Seki H, Kanegane H, Iwai K, Konno A, Ohta K, Yachie A, et al. Ionizing radiation induces apoptotic cell death in human TcR-gamma/delta+ T and natural killer cells without detectable p53 protein. *Eur J Immunol* 1994; 24: 2914-7.
- Hall EJ. Repair of radiation damage and dose rate effect. In: Hall EJ editor. *radiobiology for the radiologists*. 4th ed. Philadelphia: J.B. Lippincott 1994. p. 107-31.
- Monsieurs MA, Thierens HM, van de Wiele CV, Vral AM, Meirlaen IA, de Winter HA, et al. Estimation of risk based on biological dosimetry for patients treated with radioiodine. *Nucl Med Commun* 1999; 20: 911-7.
- Gutiérrez S, Carbonell E, Galofré P, Creus A, Marcos R. Cytogenetic damage after 131-iodine treatment for hyperthyroidism and thyroid cancer. A study using the micronucleus test. *Eur J Nucl Med* 1999; 26: 1589-96.
- Watanabe N, Yokoyama K, Kinuya S, Shuke N, Shimizu M, Futatsuya R, et al. Radiotoxicity after iodine-131 therapy for thyroid cancer using the micronucleus assay. *J Nucl Med* 1998; 39: 436-40.

Original Article

## Cytological Radiotoxicity of Radioiodine Therapy in Patients with Differentiated Thyroid Carcinoma

Hooman A, Mogharrabi M, Mosaffa N, Tabeie F, Shafiee B, Neshandar asli I.  
Nuclear medicine department, Taleghani hospital, Shahid Beheshti University M.C., Tehran, I.R. Iran.  
e-mail: dr\_arefhooman@yahoo.com

### Abstract

**Introduction:** Cytological radiation damage to lymphocytes can result in augmentation of cells with micronuclei. In this study we investigated cytological radiation damage to peripheral blood lymphocytes using the micronuclei assay (MNA) method. Considering the value of Iodine-131 in diagnostic and therapeutic nuclear medicine and high absorbed dose of I131 radioiodine in comparison with gamma emitters and the effect of type of radiation, dose and species on radiosensitivity of patients, this study was conducted. To evaluating the cytological radiotoxicity of therapeutic radiotracers such as radioiodine I131. **Materials and Methods:** We studied 22 patients with differential thyroid carcinoma who were referred for treatment with 100 or 150 mci I131. Before and one week after treatment the peripheral lymphocytes were harvested and isolated by a cytological method and assayed for frequency of micronuclei as a marker of cytological radiotoxicity. **Results:** The means of micronuclei in one hundred binuclear lymphocytes were  $6.3 \pm 2.2$  before treatment and  $9.6 \pm 3.1$  after treatment, differences in the number of micronuclei being statistically significant ( $p$  value  $< 0.05$ ). **Conclusions:** High doses of radioiodine therapy used after surgery for differentiated thyroid carcinoma can increase micronuclei among peripheral lymphocytes as an indirect marker of chromosomal aberrations and cytotoxic radiation damage.

**Key words:** Thyroid carcinoma, Radioiodine therapy, Micronuclei, Lymphocyte, Radiation, Chromosomal aberration, Cytotoxic damage