

## EFEITO CITOGENÉTICO DO $^{131}\text{I}$ PRECEDIDO POR ADMINISTRAÇÃO DE REC-HTSH EM RATOS WISTAR

Márcia Augusta da Silva<sup>1,3</sup>, Maria Teresa Carvalho Pinto Ribela<sup>1</sup>, Miriam Fussae Suzuki<sup>1</sup>, Maria Inês Calil Cury Guimarães<sup>2</sup>, Carlos Alberto Buchpiguel<sup>2</sup>, Paolo Bartolini<sup>1</sup>, Kayo Okazaki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP)  
Av. Professor Lineu Prestes 2242  
05508-000 São Paulo, SP  
[kokazaki@ipen.br](mailto:kokazaki@ipen.br)

<sup>2</sup> Centro de Medicina Nuclear da Faculdade de Medicina da USP (CMN / FMUSP)  
Trav. Rua Ovídio Pires s/n  
05403-010 São Paulo, SP  
[maria.inês@hcnet.usp.br](mailto:maria.inês@hcnet.usp.br)

<sup>3</sup> Centro Universitário São Camilo  
Av. Nazaré 1501  
04263-200 São Paulo, SP

### RESUMO

Em medicina nuclear, o  $^{131}\text{I}$  é um dos radionuclídeos mais utilizados em desordens tireoidianas, tanto para fins diagnósticos como terapêuticos. O objetivo do presente estudo consistiu em analisar os efeitos citogenéticos do  $^{131}\text{I}$ , precedido por estímulo com rec-hTSH, produzido no IPEN/CNEN-SP [1] em modelo animal por meio da técnica de aberrações cromossômicas. Rec-hTSH é uma glicoproteína administrada em pacientes submetidos a tireoidectomia como uma alternativa a suspensão da terapia hormonal para aumentar o nível de TSH e, conseqüentemente, a captação de  $^{131}\text{I}$  pelo tecido metastático, mantendo assim o estado eutireoideo [2]. Para tanto, foram utilizados ratos Wistar (SPF, fêmeas, 200 g de peso), divididos em 2 grupos: animais tratados somente com  $^{131}\text{I}$  (G1) (11,1 MBq via gavagem gástrica) e animais submetidos ao rec-hTSH-IPEN (1,2  $\mu\text{g}$  por injeção intramuscular), 24 horas antes da administração do  $^{131}\text{I}$  (G2). As amostras sanguíneas foram coletadas antes (basal), 24 horas, 1 semana e 1 mês após o tratamento para a avaliação citogenética. Os dados citogenéticos obtidos mostraram um aumento nas frequências de células com aberrações cromossômicas bem como no número de aberrações cromossômicas/célula, 24 horas após a administração de  $^{131}\text{I}$  quando comparadas com os valores basais, tanto nos animais do grupo G1 como nos do grupo G2. Após 7 e 30 dias da administração do radioiodo, verificou-se um ligeiro declínio nas frequências de aberrações cromossômicas. Os animais pré-tratados com rec-hTSH-IPEN apresentaram porcentagem de células com aberrações cromossômicas e o número de aberrações cromossômicas/célula mais elevados que os animais do grupo G1, tanto nas amostras de 24 horas após a administração do  $^{131}\text{I}$  quanto nas amostras de 7 dias, embora a diferença não seja estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ). Os resultados obtidos podem permitir extrapolações para caso humano, na avaliação mais acurada dos riscos biológicos envolvidos em pessoas expostas ao radioiodo, bem como para a otimização de uma estratégia terapêutica.

### 1. INTRODUÇÃO

O  $^{131}\text{I}$  é um emissor de partículas beta ( $E_{\text{máxima}} = 0,61 \text{ MeV}$  e  $E_{\text{média}} = 0,20 \text{ MeV}$ ) e de raios gama ( $E = 0,36 \text{ MeV}$ ) com meia vida física de 8 dias. Aproximadamente 90% dos efeitos secundários são resultantes da radiação beta que apresenta um alcance de cerca de 0,4 mm no tecido mole [3]. A sua ampla aplicação clínica, tanto para fins diagnósticos como

terapêuticos, se deve essencialmente a rapidez com que o  $^{131}\text{I}$  é incorporado pela tireóide, oferecendo uma indicação da atividade funcional da glândula do paciente [4].

Dentre várias doenças da tireóide, como o hipo e o hipertireoidismo, o carcinoma tireoidiano é o tipo mais comum de câncer do sistema endócrino, sendo identificados cerca de 28.000 novos casos por ano na Europa e nos Estados Unidos [5]. O risco de desenvolver o carcinoma tireoidiano aumenta com a idade e a incidência é mais alta nas mulheres do que nos homens [6]. As principais modalidades terapêuticas para esses pacientes consistem na retirada cirúrgica do tecido tireoidiano (tireoidectomia), irradiação externa ou na terapia com radioiodo, reduzindo a quantidade de tecido tumoral [7].

O tratamento com radioiodo em pacientes com câncer diferenciado da tireóide requer, geralmente, a suspensão de terapia com reposição de  $\text{T}_4$ . Essa retirada é necessária para aumentar o TSH endógeno acima de um certo nível ( $\sim 30\mu\text{U}/\text{mL}$ ) e assim, maximizar a captação seletiva do  $^{131}\text{I}$  pelas células neoplásicas [2,5,8]. No entanto, a suspensão de  $\text{T}_4$  induz sintomas de hipotireoidismo por períodos prolongados, ( $\sim 10$  semanas) até a recuperação dos níveis séricos do hormônio, causando um comprometimento no âmbito familiar, social, pessoal e profissional, considerando que a idade média dos pacientes com câncer de tireóide é de 35 anos [6,8,9]. Além dessas manifestações, o nível de TSH elevado e prolongado, pode aumentar o risco de crescimento metastático [4,9].

O rec-hTSH (hormônio recombinante humano estimulante da tireóide) altamente purificado foi introduzido recentemente como alternativa à suspensão da terapia com hormônio tireoidiano, que age elevando os níveis séricos de TSH, preservando a homeostase metabólica e impedindo os sinais e os sintomas de hipotireoidismo [2].

O Thyrogen<sup>®</sup>, única preparação comercial de rec-hTSH existente, é uma glicoproteína heterodimérica, composta de duas subunidades ligadas não covalentemente: uma subunidade alfa, comum a outros hormônios glicoproteicos (FSH, LH e CG) com 92 resíduos de aminoácidos contendo dois sítios de glicosilação e uma subunidade beta, específica do hormônio com 118 resíduos de aminoácidos contendo um sítio de glicosilação. A seqüência de aminoácidos do Thyrogen<sup>®</sup> é idêntica àquela do TSH humano hipofisário e é produzido pelas células de ovário de hamster Chinês (CHO), transfectadas com plasmídios contendo a seqüência de DNA que codifica para as subunidades alfa e beta do TSH humano, cujos genes se localizam nos cromossomos 6 e 1, respectivamente [10].

Os pacientes com câncer diferenciado da tireóide submetidos ao tratamento com Thyrogen<sup>®</sup>, seguido da administração de  $^{131}\text{I}$ , apresentam uma captação significativamente aumentada de radioiodo, tanto nos tecidos tireoidianos remanescentes como nos tecidos metastáticos, portanto, com uma meia vida de permanência orgânica maior quando comparado com a suspensão da terapia com  $\text{T}_4$ , podendo assim, ocasionar uma exposição mais prolongada ao  $^{131}\text{I}$  [11].

Estudos têm confirmado a segurança e o uso promissor de rec-hTSH em associação com o  $^{131}\text{I}$  tanto em pacientes com bócio nodular como com câncer diferenciado da tireóide [2,8,9,11]. Não obstante a reconhecida eficácia da utilização do  $^{131}\text{I}$  no tratamento de pacientes com doenças da tireóide, efeitos citogenéticos relacionados com a exposição terapêutica com o radioiodo são pouco explorados. O uso terapêutico de  $^{131}\text{I}$  como qualquer outro tipo de radiação ionizante, pode causar danos genéticos aos pacientes, tendo em vista doses usuais de  $^{131}\text{I}$  da ordem de 1110 a 3700 MBq [5] e até 19000 MBq [12] para o tratamento de pacientes com câncer diferenciado da tireóide.

Alterações citogenéticas em linfócitos periféricos de pacientes tratados com  $^{131}\text{I}$  foram detectadas pela técnica de aberrações cromossômicas [7,13], micronúcleos [3,14,], micronúcleos associados com FISH [15,16] e trocas entre cromátides-irmãs [17]. Há poucos estudos sobre os efeitos mutagênicos do  $^{131}\text{I}$  em modelo animal. Speight *et al.* [18] analisaram alterações cromossômicas em células da tireóide de ratos administrados com 1-25  $\mu\text{Ci}$  de  $^{131}\text{I}$  e Monakhov [19] verificou um aumento máximo de aberrações cromossômicas em linfócitos periféricos de ratos tratados com 37 Bq/g de  $^{131}\text{I}$ , 24 horas após o tratamento.

Neste contexto geral, a utilização de modelo animal pode nos fornecer importantes informações referentes à relação entre a exposição de radionuclídeos de interesse médico e o potencial genotóxico em nível celular. O presente estudo teve como objetivo analisar efeitos citogenéticos do  $^{131}\text{I}$ , precedido por estímulo com TSH humano recombinante (rec-hTSH) produzido com a tecnologia nacional no IPEN-CNEN/SP [1] em modelo animal (ratos) por meio da técnica de aberrações cromossômicas. Essa técnica é conhecida pela sua alta sensibilidade e pela riqueza de informações [20].

Não há dados na literatura sobre os danos cromossômicos resultantes de exposição prolongada ao  $^{131}\text{I}$  quando precedido por estímulo com TSH recombinante tanto em modelo animal como em humanos. A escolha do rato como animal de experimentação decorre do fato deste apresentar um número diplóide de cromossomos ( $2n=42$ ) próximo ao do humano ( $2n=46$ ) e a radiosensibilidade dos linfócitos sanguíneos assemelhar-se àquela dos humanos [21].

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Animais

Foram utilizados ratos Wistar SPF (Specific Pathogen Free), fêmeas, com cerca de 2 meses de idade, pesando em torno de 200 g, criação mantida no biotério do IPEN-CNEN/SP, alimentados com ração livre de iodo e água *ad libitum*. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas e manuseados de acordo com as regras de ética. Os animais foram divididos em 2 grupos constituídos por 6 ratos normais não tireoidectomizados: animais tratados somente com  $^{131}\text{I}$  (11,1 MBq, via oral por gavagem gástrica) (G1) e àqueles submetidos ao rec-hTSH-IPEN (1,2  $\mu\text{g}$ , via intramuscular), 24 horas antes da administração

do  $^{131}\text{I}$  (G2). As amostras sanguíneas de cada animal foram coletadas via plexo orbital antes (basal), 24 horas, 1 semana e 1 mês após a administração do hormônio ou  $^{131}\text{I}$  para a avaliação citogenética. Tanto a concentração do hormônio como a atividade do  $^{131}\text{I}$  administradas nos animais foram determinadas segundo o protocolo de tratamento estabelecido pelo Centro de Medicina Nuclear da FMUSP em pacientes com doenças da tireóide (0,45 mg de Thyrogen<sup>®</sup> e cerca de 3700 MBq de  $^{131}\text{I}$  em homem referência de 70 kg). As soluções de  $\text{Na}^{131}\text{I}$  utilizadas nos ensaios foram fornecidas pelo Centro de Radiofarmácia do IPEN-CNEN/SP.

## 2.2. Ensaio Citogenético

As células sanguíneas foram cultivadas em meio RPMI 1640 (Cultilab), suplementadas com 20% de soro fetal bovino (Cultilab), BrdU (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , Sigma) e estimuladas com concanavalina-A (2%), permanecendo por 72 horas, a 37 $^{\circ}$  C. A seguir, as células foram tratadas com colchicina (0,7  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , Sigma) por 2 horas, posteriormente hipotonizadas com 0,075 M de KCl e 1% de citrato de sódio (Merck), fixadas e montadas em lâminas histológicas pré-aquecidas a 65 $^{\circ}$ C. As lâminas foram coradas com Hoechst 33258 (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , Sigma), cobertas com 0,5 mL de tampão McIlvaine (pH 8,0) e expostas a luz UV (254 nm) por 20 minutos em placas aquecidas a 60 $^{\circ}$ C. As lâminas foram lavadas em água destilada, coradas com 5% de Giemsa (Sigma) em tampão fosfato pH 6,8 e analisadas no microscópio óptico CARL ZEISS. Todas as metáfases contendo número diplóide de até 2n-2 cromossomos foram consideradas. As aberrações cromossômicas estruturais encontradas foram classificadas de acordo com o critério estabelecido pela Agência Internacional de Energia Atômica [20].

## 2.3. Análise Estatística

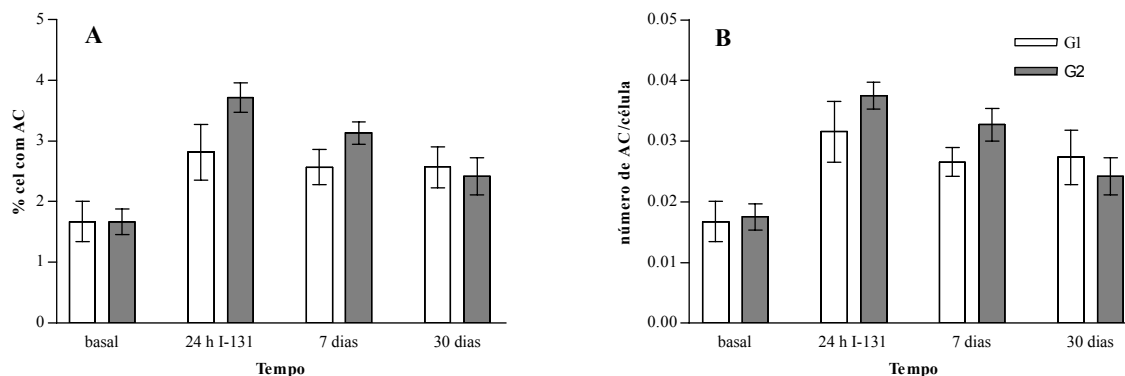
Para a comparação dos dados obtidos entre os dois grupos de animais e entre diferentes tempos após a administração do radioiodo foi utilizado o teste t de Student.

## 3. RESULTADOS

A análise citogenética de linfócitos de ratos Wistar mostrou um cariótipo de 42 cromossomos, composto de 7 pares metacêntricos, 5 pares submetacêntricos e 9 pares telocêntricos [18]. Vários tipos de aberrações cromossômicas estruturais foram observados, entre os quais, dicêntricos, *double minute*, fragmentos acêntricos, *gaps* e quebras cromossômicas.

As tabelas 1 e 2 apresentam dados obtidos de animais dos grupos G1 (tratamento com  $^{131}\text{I}$ ) e G2 (tratamento com rec-hTSH-IPEN e  $^{131}\text{I}$ ), quanto à frequência de aberrações cromossômicas estruturais e quanto ao número de cromossomos, respectivamente. A frequência média basal de células com aberrações cromossômicas foi em torno de 1,7% nos dois grupos de animais analisados.

Uma representação gráfica da relação entre a frequência de aberrações cromossômicas e o tempo após a administração do  $^{131}\text{I}$ , nos dois grupos analisados está expressa na Figura 1, onde dois parâmetros foram analisados: frequência de células afetadas (% de células com aberrações cromossômicas) (A) e o grau de dano por célula (número de aberrações cromossômicas/célula) (B).



**Figura 1: Frequências de aberrações cromossômicas (AC) encontradas em linfócitos sanguíneos de ratos em função do tempo nos grupos G1 e G2.**

**Tabela 1: Frequências de aberrações cromossômicas estruturais (AC) observadas em linfócitos sanguíneos de animais dos grupos G1 (tratamento com  $^{131}\text{I}$ ) e G2 (tratamento com rec-hTSH-IPEN associado ao  $^{131}\text{I}$ )**

Grupo	Amostra	Número de Células analisadas	Frequência de Aberrações/célula	Porcentagem de Células com aberrações
G1	Basal	1196	0.017 ± 0.008	1.67 ± 0.82
	24 hs após $^{131}\text{I}$	1130	0.032 ± 0.012	2.82 ± 1.14
	7 dias após $^{131}\text{I}$	1294	0.026 ± 0.006	2.57 ± 0.71
	30 dias após $^{131}\text{I}$	1148	0.027 ± 0.011	2.57 ± 0.83
G2	Basal	1131	0.018 ± 0.005	1.67 ± 0.52
	24 hs após $^{131}\text{I}$	1001	0.038 ± 0.005	3.72 ± 0.61
	7 dias após $^{131}\text{I}$	1071	0.033 ± 0.007	3.13 ± 0.46
	30 dias após $^{131}\text{I}$	1135	0.024 ± 0.007	2.42 ± 0.74

Houve um aumento, porém, não significativo ( $p > 0,05$ ), nas porcentagens de células com aberrações cromossômicas 24 horas, 7 e 30 dias após a administração de  $^{131}\text{I}$  quando comparadas com os valores basais nos animais tratados somente com o radioiodo (G1). Todavia, nos animais tratados com rec-hTSH/IPEN mais  $^{131}\text{I}$  (G2), esta diferença foi altamente significativa ( $p < 0,001$ ), seja após 24 horas ou 7 dias, não tendo significância estatística ( $p > 0,05$ ) somente após 30 dias. Estes dados, certamente demonstram uma maior captação de radioiodo pela tireóide dos animais que receberam também rec-hTSH, sempre considerando as frequências de células com aberrações cromossômicas. Pode-se, outrossim, observar que as diferenças claramente evidenciadas entre os dois grupos (G1 e G2) não foram estatisticamente significativas ( $p > 0,10$ ).

Quando se analisou o grau de dano/célula com relação aos valores basais, foram encontradas desta vez, diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) e altamente significativas ( $p < 0,005$  e  $p < 0,001$ ) nos grupos G1 e G2, respectivamente, após 24 horas e 7 dias, não tendo significância estatística ( $p > 0,10$ ) após 30 dias. Novamente, a despeito das aparentes diferenças observadas entre os dois grupos após 24 horas e 7 dias, estas não foram estatisticamente significativas ( $p > 0,10$ ).

**Tabela 2: Frequências de células com número modal e hipomodal de cromossomos e diferentes ciclos mitóticos observados em linfócitos sanguíneos de ratos Wistar dos grupos G1 (tratamento com  $^{131}\text{I}$ ) e G2 (tratamento com rec-hTSH-IPEN e  $^{131}\text{I}$ )**

Grupo	Amostra	Número de células analisadas	Número de cromossomos (%)			Ciclo celular (%)		
			42	41	40	1ª divisão	2ª divisão	3ª divisão
G1	Basal	1196	82,5	12,6	4,9	96,5	3,4	0,1
	24 hs após $^{131}\text{I}$	1130	85,2	9,6	5,2	96,0	4,0	0,0
	7 dias após $^{131}\text{I}$	1294	84,5	11,2	4,3	94,0	5,9	0,1
	30 dias após $^{131}\text{I}$	1148	89,4	7,7	2,9	95,9	4,1	0,0
G2	Basal	1131	79,5	12,9	7,6	95,2	4,6	0,2
	24 hs após $^{131}\text{I}$	1001	92,1	6,9	1,0	91,2	8,4	0,4
	7 dias após $^{131}\text{I}$	1071	93,9	5,5	0,6	93,5	6,5	0,0
	30 dias após $^{131}\text{I}$	1135	89,2	8,4	2,4	94,5	5,5	0,0

Para averiguar a indução de aneuploidia em células sanguíneas de ratos, levou-se em consideração a frequência de metáfases com número modal (42 cromossomos) e hipomodal de cromossomos (40 e 41 cromossomos) (Tabela 2). O número modal cromossômico variou de 82 a 94% e não houve uma correlação positiva com a administração do  $^{131}\text{I}$ . A frequência

de células na primeira divisão mitótica foi maior que 90%, tanto nas amostras basais como nas tratadas, o que sugere que tanto o  $^{131}\text{I}$  como o rec-hTSH não alteraram a cinética do ciclo celular em linfócitos sanguíneos de ratos.

#### 4. DISCUSSÃO

O desenvolvimento e a aplicação de novos radiofármacos terapêuticos têm conduzido discussões sobre os efeitos estocásticos da radiação ionizante, embora não haja uma clara evidência de um aumento na incidência de efeitos tardios com qualquer dos radiofármacos comumente usados em medicina nuclear [17]. A maioria das informações sobre os efeitos da radiação ionizante nos cromossomos é oriunda de estudos *in vitro* conduzidos com culturas de células humanas submetidas a vários níveis de irradiação externa, utilizando diferentes tipos de fonte de radiação ionizante.

Nesse sentido, efeitos de irradiação interna e contínua de partículas beta em nível celular e tecidual, particularmente, o radioiodo empregado no tratamento de pacientes com doenças da tireóide é de especial interesse. É de considerável valia também, averiguar relação entre a extensão de exposição ao radioiodo e a indução de aberrações cromossômicas em linfócitos circulantes de indivíduos expostos terapêutica ou acidentalmente. Embora a maioria da exposição ao  $^{131}\text{I}$  é emitida da tireóide, que pode funcionar como uma fonte interna de irradiação [3], o radioiodo no sangue e tecido bem como a radiação gama emitida da tireóide pode contribuir também para a irradiação do resto do corpo [13].

Os dados citogenéticos obtidos no presente estudo mostraram um aumento nas freqüências de aberrações cromossômicas e no número de aberrações/célula, 24 horas após a administração do  $^{131}\text{I}$  com um declínio gradual após 7 e 30 dias, embora mais altos que os valores basais, tanto nos animais do G1 como os do G2. Resultados análogos foram obtidos por outros autores [14,15,17,22], os quais verificaram uma queda gradual de danos cromossômicos em função do tempo após a administração do  $^{131}\text{I}$  em pacientes com câncer da tireóide, embora os valores encontrados 1 ou 2 anos após a terapia sejam significativamente mais altos que os valores basais. Não há uma informação precisa sobre o destino de linfócitos danificados *in vivo*. O declínio gradual de células contendo danos genéticos pode ser decorrente em parte, da morte celular, substituição pelas células não danificadas e possivelmente da ocorrência de reparo celular.

O declínio nas freqüências de dicêntricos e fragmentos acêntricos pode ser o resultado de vários mecanismos de ação, provavelmente envolvendo perda de genes essenciais para a sobrevivência celular. As translocações podem também apresentar uma pequena deleção de pares de bases, ocasionando perda de genes críticos que podem levar à morte eventual de células afetadas [23].

A análise de aberrações cromossômicas mostrou ainda que os animais tratados previamente com rec-hTSH (G2) apresentaram freqüência de células afetadas bem como o número de

aberrações/célula mais elevados que os animais tratados somente com o  $^{131}\text{I}$  (G1), tanto nas amostras de 24 horas após a administração do  $^{131}\text{I}$  quanto nas de 7 dias, embora as diferenças não sejam significativas. Este fato pode ser atribuível ao número relativamente pequeno de animais ( $n=6$ ) ou pode ser decorrente da variabilidade de comportamento entre os animais, ou seja, nem todos eles responderam de maneira similar ao tratamento, necessitando, portanto, de análises posteriores.

Além dos efeitos clastogênicos do  $^{131}\text{I}$ , alguns autores [16] encontraram efeitos aneugênicos mediados pelo radioiodo dependentes da idade em linfócitos sanguíneos de pacientes com câncer da tireóide e que o efeito aneugênico não foi dirigido preferencialmente ao cromossomo X, mas provavelmente, envolvendo todos os cromossomos. No presente estudo, não foi verificado qualquer alteração no número de cromossomos mediado pelo tratamento, tanto no grupo G1 como no G2. A frequência relativamente alta de células com número hipomodal de cromossomos pode ser decorrente de problemas inerentes da técnica citogenética no momento do espalhamento dos cromossomos nas lâminas.

Com relação à frequência de células nos diferentes ciclos mitóticos pode-se sugerir que o tratamento, seja somente com  $^{131}\text{I}$  ou associado ao rec-hTSH, não alterou a cinética de proliferação celular em linfócitos sanguíneos de ratos. Considerando os efeitos colaterais adversos à saúde associados ao radioiodo [4], os dados obtidos podem ser úteis no sentido de vislumbrar uma otimização da estratégia terapêutica, reduzindo a atividade do radioiodo tão baixa quanto possível e minimizando a irradiação de órgãos e tecidos extra-tireoidianos em pacientes com doenças da tireóide.

As próximas etapas do presente estudo consistem, portanto, em estimar a atividade acumulada e o tempo de residência do radioiodo na tireóide do animal e comparar os efeitos do rec-hTSH produzido no IPEN com os do Thyrogen<sup>®</sup>, um produto importado, visando a possibilidade de introduzir um produto totalmente nacional, minimizando o custo dos tratamentos.

## 5. CONCLUSÃO

Os dados obtidos em modelo animal mostraram que o tratamento somente com  $^{131}\text{I}$  ou com prévia administração de rec-hTSH seguida do radioiodo, propiciou uma maior quantidade de alterações cromossômicas, após 24 horas e 7 dias em relação aos valores basais. As diferenças, porém, foram altamente significativas quando houve um pré-estímulo com rec-hTSH juntamente ao  $^{131}\text{I}$ . Comparando os dois grupos (G1 e G2), houve aparentemente maiores alterações cromossômicas no G2 após 24 horas e 7 dias, sem porém significância estatística.

## REFERÊNCIAS

1. C. N. Peroni, C. R. J. Soares, E. Gimba, L. E. Morganti, M. T. C. P Ribela, P. Bartolini, "High level expression of human thyroid stimulating hormone in chinese hamster ovary cells by cotransfection of dicistronic expression vectors followed by a dual marker amplification strategy", *Biotechnology and Applied Biochemistry*, **v.35**, pp.19-26 (2002).
2. F. Lippi, M. Capezzone, F. Angelini, D. Taddei, E. Molinaro, A. Pinchera, F. Pacini, "Radioiodine treatment of metastatic differentiated thyroid cancer in patients on L-thyroxine, using recombinant human TSH", *European Journal of Endocrinology*, **v.144 (1)**, pp. 5-11 (2001).
3. S. Gutiérrez, E. Carbonell, P. Galofré, A. Creus, R. Marcos, "Micronuclei induction by <sup>131</sup>I exposure: study in hyperthyroidism patients", *Mutation Research*, **v.373**, pp.39-45 (1997).
4. M. Klain, M. Ricard, S. Leboulleux, E. Baudin, M. Schlumberger, "Radioiodine therapy for papillary and follicular thyroid carcinoma", *European Journal of Nuclear Medicine*, **v.29 (2)**, pp. S479-S485 (2002).
5. M. J. Schlumberger, "Diagnostic follow-up of well –differentiated thyroid carcinoma: Historical perspective and current status", *Journal of Endocrinology Investigation*, **v.22**, pp. 3-7 (1999).
6. E. C. Andres-Barrenechea, Radioiodine therapy for hyperthyroidism. *IAEA, Technical Report Series n° 354*, Vienna. pp. 180-183 (2001).
7. S. Gundy, N. Katz, M. Fuzy, O. Ésik, "Cytogenetic study of radiation burden in thyroid disease patients treated with external irradiation or radioiodine", *Mutation Research*, **v.360**, pp. 107-113 (1996).
8. B. DE Keizer, B. Brans, A. Hoekstra, P.M.J. Zelissen, H.P.F. Koppeschaar, C.J.M. Lips, P.P. Rijk, R.A. Dierchx, J.M.H. Klerk, "Tumor dosimetry and response in patients with metastatic differentiated thyroid cancer using recombinant human thyrotropin before radioiodine therapy", *European Journal of Nuclear Medicine Molecular Imaging*, **v.30 (3)**, pp. 367-373 (2003).
9. M.J. Schlumberger, C. Incer, F. Pacini, C. Reiners, "The role of recombinant thyroid-stimulating hormone (rhTSH) in the detection and management of well-differentiated thyroid carcinoma: A roundtable discussion", *Journal Endocrinology Investigation*, **v.22**, pp.35-41 (1999).
10. M.W. Szkudlinski, V. Fremont, C. Ronin, B.D. Weintraub, "Thyroid-stimulating hormone and thyroid-stimulating hormone receptor structure-function relationships", *Physiological Review*, **v.82**, pp.473-501 (2002).
11. D.A. Huysmans, W.-A. Nieurolaat, R.J. Erdtsieck, A.P. Schellekens, J.W. Bus, B. Bravenboer, A.R. Hurmus, "Administration of a single low dose of recombinant human thyrotropin significantly enhances thyroid radioiodide uptake in nontoxic nodular goiter", *Journal Clinical Endocrinology & Metabolism*, **v.85 (10)**, pp. 3592-3596 (2000).
12. M.T.C.P.Ribela, M.M.S. Marone, P. Bartoline, "Use of radioiodine urinalysis for effective thyroid blocking in the first few hours post exposure", *Health Physics*, **v.76(1)**, pp.11-16 (1999).
13. L. Bagnat-Mahieu, M. Lemaire, E.D. Léonard, A. Léonard, G.B. Gerber, "Chromosome aberrations after treatment with radioactive iodine for thyroid cancer", *Radiation Research*, **v.140**, pp.429-431 (1994).
14. S. Gutiérrez, E. Carbonell, P. Galofré, A. Creus, R. Marcos, "Cytogenetic damage after <sup>131</sup>I treatment for hyperthyroidism and thyroid cancer", *European Journal of Nuclear Medicine*, **v.26 (12)**, pp. 1589-1596 (1999).

15. R. M'Kacher, J. -D. Legal, M. Schlumberger, B. Aubert, N. Berongaillard, A. Gausson, C. Parmentier, "Sequential biological dosimetry after a single treatment with iodine-131 for differentiated thyroid carcinoma", *Journal of Nuclear Medicine*, **v.38**, pp.377-380 (1997).
16. M.J. Ramírez, J. Surrallés, P. Galofré, A. Creus, R. Marcos, "Radioactive iodine induces clastogenic and age-dependent aneugenic effects in lymphocytes of thyroid cancer patients as revealed by interphase FISH", *Mutagenesis*. **v.12(6)**, pp.449-455 (1997).
17. T. Erselcan, S. Sungu, S. Ozdemir, B. Turgut, D. Dogan, O. Ozdemir, "Iodine-131 treatment and chromosomal damage: In vivo dose-effect relationship", *European Journal of Nuclear Medicine Molecular Imaging*, **v.31**, pp.676-684 (2004).
18. J.W. Speight, W.I. Baba, G.M. Wilson, "The effect of propylthiouracil and <sup>131</sup>I on rat thyroid chromosomes", *Journal of Endocrinology*, **v.42**, pp. 267-275 (1968).
19. A.S. Monakhov, "Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in the chromosomes of the blood lymphocytes of rats after iodine-131 incorporation into the body", *Genetika*, **v.19 (9)**, pp.1257-1260 (1983).
20. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Cytogenetic Analysis for Radiation Dose Assessment – a manual, *Technical Report Series n<sup>o</sup> 405*, Vienna, IAEA (2001).
21. C. Catena, D. Conti, P. Villani, R. Nastasi, R. Archilei, E. Righ, "Micronuclei and 3AB index in human and canine lymphocytes after in vitro X-irradiation", *Mutation Research*, **v.312**, pp.1-8 (1994).
22. O.M. Gil, N.G. Oliveira, A. S. Rodrigues, A. Laires, T.C. Ferreira, E. Limbert, A. Leonard, G. Gerber, J. Rueff, "Cytogenetic alterations and oxidative stress in thyroid cancer patients after iodine-131 therapy", *Mutagenesis*, **v.15 (1)**, pp. 69-75 (2000).
23. J.D.Tucker, J.W. Breneman, J.F. Briner, G.G. Eveleth, R.G. Langlois, D.H. Moore II, "Persistence of radiation-induced translocations in rat peripheral blood determined by chromosome painting", *Environmental and Molecular Mutagenesis*, **v.30**, pp.264-272 (1997).